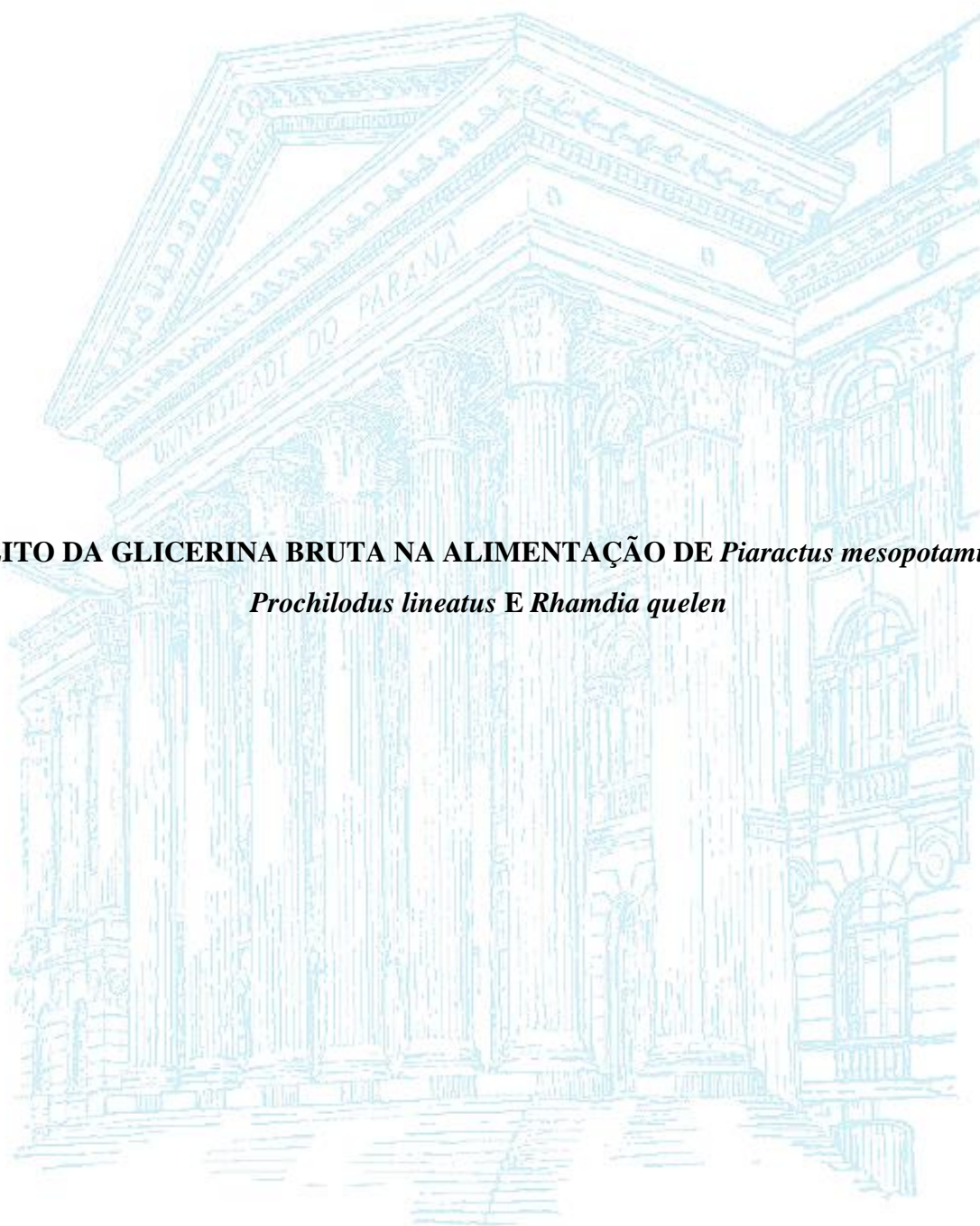


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

RAFAEL ERNESTO BALEN

**EFEITO DA GLICERINA BRUTA NA ALIMENTAÇÃO DE *Piaractus mesopotamicus*,
Prochilodus lineatus E *Rhamdia quelen***



CURITIBA

2016

RAFAEL ERNESTO BALEN

**EFEITO DA GLICERINA BRUTA NA ALIMENTAÇÃO DE *Piaractus mesopotamicus*,
Prochilodus lineatus E *Rhamdia quelen***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zoologia, do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências, Área de Concentração em Zoologia.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Meurer

Coorientadora: Profa. Dra. Lilian Carolina Rosa da Silva

CURITIBA

2016

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ZOOLOGIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Tese de Doutorado de **RAFAEL ERNESTO BALEN**, intitulada: "**EFEITO DA GLICERINA BRUTA NA ALIMENTAÇÃO DE *Piaractus mesopotamicus*, *Prochilodus lineatus* E *Rhamdia quelen***", após terem inquirido o aluno e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua

aprovação

Curitiba, 29 de Fevereiro de 2016.



Prof FÁBIO MEURER (UFPR)
(Presidente da Banca Examinadora)



Prof GILMAR BAUMGARTNER (UNIOESTE)



Prof LILIAN DENA DOS SANTOS (UFPR)



Prof LUCÍOLA THAIS BALDAN (UFPR)



Prof ROBIE ALLAN BOMBARDELLI (UNIOESTE)

À minha mãe, Dionete, toda sua fé e luta

AGRADECIMENTOS

À toda minha família, pai, mãe e irmãos pelo amor, motivação e espera por esse importante momento da minha vida.

Ao meu orientador, Fábio Meurer, pela oportunidade, confiança, “quebração de galhos” e amizade construída nos últimos anos.

Aos amigos, visitantes, ICs e colegas de Laboratório, Gilson, William, Katsciane, Gilberto, Marise, Patrick, Alan, Zilli, Edvaldo, Augusto, Aldo, Guilherme, Joel, Gomes, Neiva, Isabel, pela parceria, finalizações de experimentos e ajuda sempre que necessário.

A todos os amigos do Laboratório de Citogenética Animal e Mutagênese Ambiental do Setor de Ciências Biológicas da UFPR de Curitiba, meu antigo Lab, representados pelo Toni e pela Marga, pelos trabalhos realizados em conjunto.

Ao Pedro Argel, do Laboratório Clínico do Hospital Veterinário da UFPR - Palotina, pela disposição e ajuda nas análises de sangue.

Ao professor Dr. Robie Allan Bombardelli pela doação da glicerina bruta.

Aos amigos da Zoologia, tanto os companheiros de doutorado como os de mestrado que ingressaram no ano de 2012, pela convivência e compartilhamento de experiências na vida acadêmica.

Enfim, a todas as pessoas que passaram e foram importantes na minha vida até aqui. A jornada continua, estamos no mundo para lutar!

*A minha alucinação é suportar o dia a dia
E meu delírio é a experiência com coisas reais*

Belchior

RESUMO

O crescimento na produção mundial de biodiesel tem gerado um grande excedente de glicerina bruta, seu principal subproduto. No Brasil, a produção de peixes já superou a pesca extrativista, com predominância da espécie tilápia do Nilo. Para tentar mitigar o impacto ambiental causado pela introdução de espécies exóticas é necessário estimular a criação das nativas, nas mesmas bacias hidrográficas em que ocorrem. No intuito de aproximar as duas cadeias produtivas e conhecer as vantagens e desvantagens de sua utilização, a presente tese teve como objetivo avaliar o efeito da inclusão da glicerina bruta nas dietas de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), curimatá (*Prochilodus lineatus*) e jundiá (*Rhamdia quelen*), todas espécies nativas da bacia do rio Paraná. Inicialmente, por meio do método indireto de coleta de fezes e uso do marcador inerte óxido de cromo III (Cr_2O_3) na concentração de 0,1% da dieta, foi demonstrado que a energia bruta fornecida pela glicerina bruta é bem aproveitada pelo jundiá e pelo pacu, haja vista os valores dos coeficientes de digestibilidade aparente obtidos, de 0,89 e 0,97, respectivamente, sugerindo que este composto fornece energia digestível superior a de outros alimentos energéticos convencionalmente utilizados nas dietas de ambas as espécies. Posteriormente, foi avaliado o efeito da substituição do milho pela glicerina bruta na dieta de juvenis de jundiá. Para tanto, 432 espécimes de jundiá *R. quelen* (peso inicial de $14,39 \pm 3,46\text{g}$) foram distribuídos em 24 caixas de fibra de vidro (1000 L) em um delineamento inteiramente ao acaso, com seis tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos consistiram de dietas contendo seis níveis de substituição do milho pela glicerina bruta (0, 20, 40, 60, 80 e 100%), com base em suas energias digestíveis. Houve influência dos tratamentos ($p < 0,05$) sobre a altura, rendimento de carcaça sem cabeça, rendimento de tronco limpo e conteúdo de gordura do corpo inteiro. Sobre a gordura corporal foi observado, ainda, efeito quadrático ($y = 0,000213x^2 - 0,03270x + 1,961$; $r^2 = 0,71$) da substituição, com a menor percentagem sendo estimada no nível de 76,76%. Concluiu-se que a substituição de 76,76% do milho pela glicerina bruta na dieta de jundiá promove menor teor de gordura na carcaça, sem afetar o crescimento, desempenho produtivo e os parâmetros bioquímicos do sangue de juvenis. Por fim, foi estudada a digestibilidade aparente e o efeito da inclusão da glicerina bruta sobre o crescimento de juvenis de curimatá (*P. lineatus*). No ensaio de digestibilidade, foram coletadas fezes de 35 espécimes alimentados com uma dieta referência e uma dieta-teste constituída por 71,1% de uma dieta referência e 28,9% de glicerina bruta, tendo o Cr_2O_3 como marcador inerte. No experimento de inclusão, foram utilizados 750 juvenis (peso inicial de $18,71 \pm 2,70\text{g}$), em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com seis tratamentos (dietas com níveis de inclusão de glicerina bruta de 0, 4, 8, 12, 16 e 20%) e cinco repetições. Foi observado que o coeficiente de digestibilidade aparente da glicerina bruta para o curimatá foi de 0,76, e ocorreu efeito dos tratamentos ($p < 0,05$) sobre os parâmetros de crescimento peso final médio, comprimento total, comprimento padrão, altura e largura, e sobre os parâmetros de desempenho ganho de peso, conversão alimentar aparente e taxa de crescimento específico. Ocorreu efeito linear ($p < 0,01$) das dietas sobre o peso final, comprimento total, ganho de peso e conversão alimentar. Em relação aos parâmetros bioquímicos do sangue, os níveis de glicerina afetaram ($p < 0,05$) apenas a concentração plasmática de glicose e de triglicérides. A inclusão de 4% de glicerina bruta na dieta favoreceu o crescimento e o desempenho produtivo de curimatá, não interferindo na sobrevivência e proporcionando suprimento energético para os juvenis. Desse modo, os resultados obtidos sugerem que a glicerina bruta derivada da produção de biodiesel pode ser utilizada como fonte de energia na alimentação de *P. mesopotamicus*, *P. lineatus* e *R. quelen*.

Palavras-chave: Alimento alternativo. Characiformes. Glicerol. Piscicultura. Siluriformes.

ABSTRACT

The growth in world production of biodiesel has generated a large surplus of crude glycerin, its main byproduct. In Brazil, the production of fish has already surpassed the extractive fishing, with predominance of Nile tilapia species. To try to mitigate the environmental impact caused by the introduction of exotic species is necessary to stimulate the farming of native fish in the same river basins in which they occur. In order to bring the two supply chains and know the advantages and disadvantages of their use, this thesis aimed to evaluate the effect of the inclusion of crude glycerin in diets of juvenile pacu (*Piaractus mesopotamicus*), curimbatá (*Prochilodus lineatus*), and jundiá (*Rhamdia quelen*), all native species of the Paraná river basin. Initially, through the indirect method of feces collection and use of inert marker chromium oxide III (Cr_2O_3) at a concentration of 0.1% of the diet, it was demonstrated that the gross energy supplied by crude glycerin is well used by jundiá and pacu, given the values of the apparent digestibility coefficients of 0.89 and 0.97, respectively, suggesting that this compound provides high digestible energy than other energy foods conventionally used in the diets of both species. Subsequently, it was evaluated the effect of corn replacement by crude glycerin in jundiá juveniles diets. Therefore, 432 specimens of jundiá *R. quelen* (initial weight of $14.39 \pm 3.46\text{g}$) were distributed in 24 fiberglass boxes (1000L) in a completely randomized design with six treatments and four replications. The treatments consisted of diets containing six levels of corn replacement by crude glycerin (0, 20, 40, 60, 80, and 100%), based on its digestible energy. There was influence of the treatments ($p < 0.05$) on the height, headless gutted carcass yield, dressed out yield, and whole body fat content. On body fat was observed also quadratic effect ($y = 0,000213x^2 - 0,03270x + 1,961$; $r^2 = 0.71$) of replacement, with the lowest percentage being estimated at the level of 76.76%. It was concluded that the replacement of 76.76% of corn by crude glycerin in jundiá diet promotes low-fat on the body without affecting growth, productive performance and blood biochemical parameters of juveniles. Finally, it was studied the apparent digestibility and the effect of the inclusion of crude glycerin on the growth performance of juvenile curimbatá (*P. lineatus*). In the digestibility assay were collected feces from 35 specimens fed a reference diet and a test diet composed of 71.1% of a reference diet and 28.9% of crude glycerin, and Cr_2O_3 was an inert marker. In the inclusion experiment were used 750 juveniles (initial weight of $18.71 \pm 2.70\text{g}$), in a completely randomized design with six treatments (diets with inclusion levels of crude glycerin of 0, 4, 8, 12, 16, and 20%) and five replications. It was observed that the apparent digestibility coefficient of crude glycerin to curimbatá was 0.76 and there was effect of the treatments ($p < 0.05$) on the growth average final weight, total length, standard length, height, and width parameters, and on the performance weight gain, feed conversion, and specific growth rate parameters. There was a linear effect ($p < 0.01$) of diet on the final weight, total length, weight gain and feed conversion. Regarding the blood biochemical parameters, glycerine levels affected ($p < 0.05$) only the plasma glucose and triglycerides concentration. The inclusion of 4% crude glycerin in the diet favored the growth and productive performance of curimbatá, not interfering with the survival and providing energy supply for juveniles. Thus, the results suggest that crude glycerin derived from biodiesel production can be used as an energy source in the feeding of *P. mesopotamicus*, *P. lineatus*, and *R. quelen*.

Key-words: Alternative food. Characiformes. Glycerol. Fish farming. Siluriformes.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

Figura 1 – Regressão polinomial da gordura bruta do corpo inteiro de juvenis de *Rhamdia quelen* alimentados com dietas contendo diferentes níveis de substituição do milho pela glicerina bruta durante 30 dias..... 34

CAPÍTULO 3

Figura 1 – Efeito linear da inclusão de glicerina bruta na alimentação de juvenis de curimbatá sobre o peso final (a), comprimento total (b), ganho de peso (c) e conversão alimentar aparente (d)..... 47

APÊNDICE

Figura 1A – Exemplares das espécies estudadas: *Piaractus mesopotamicus* (a), *Prochilodus lineatus* (b) e *Rhamdia quelen* (c) 59

Figura 2A – Colheita de sangue de *Rhamdia quelen* por meio de punção caudal 59

Figura 3A – Estrutura física utilizada para alimentação e coleta de fezes no ensaio de digestibilidade..... 60

Figura 4A – Pós-pesagem dos ingredientes utilizados em uma das dietas experimentais..... 60

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

<i>Table 1 – Composition of experimental feeds (g kg⁻¹)</i>	25
--	----

CAPÍTULO 2

Tabela 1 – Formulação e composição química das dietas experimentais	31
Tabela 2 – Parâmetros de crescimento de juvenis de jundiá alimentados durante 30 dias com dietas contendo níveis crescentes de glicerina bruta em substituição ao milho	32
Tabela 3 – Desempenho produtivo de juvenis de jundiá alimentados durante 30 dias com dietas contendo níveis crescentes de glicerina bruta em substituição ao milho	33
Tabela 4 – Parâmetros bioquímicos do plasma sanguíneo de juvenis de jundiá alimentados durante 30 dias com dietas contendo diferentes níveis de substituição do milho pela glicerina bruta	33
Tabela 5 – Composição química do corpo inteiro de juvenis de jundiá alimentados durante 30 dias com dietas contendo diferentes níveis de substituição do milho pela glicerina bruta	34

CAPÍTULO 3

Tabela 1 – Formulação das dietas utilizadas no ensaio de digestibilidade de <i>P. lineatus</i>	43
Tabela 2 – Composição química das rações experimentais contendo diferentes níveis de glicerina bruta	45
Tabela 3 – Parâmetros de crescimento de juvenis de curimatá alimentados com dietas contendo diferentes níveis de glicerina bruta durante 64 dias.....	47
Tabela 4 – Desempenho produtivo de juvenis de curimatá alimentados com dietas contendo diferentes níveis de glicerina bruta durante 64 dias	48
Tabela 5 – Parâmetros bioquímicos do plasma sanguíneo de juvenis de curimatá alimentados durante 64 dias com dietas contendo diferentes níveis de glicerina bruta.....	49

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	12
1.1 ASPECTOS GERAIS DO CULTIVO E NUTRIÇÃO DE PEIXES NO BRASIL	12
1.2 A GLICERINA BRUTA	13
1.3 ESPÉCIES DE ESTUDO	15
REFERÊNCIAS	17
2 OBJETIVOS	22
2.1 OBJETIVO GERAL.....	22
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
3 CAPÍTULO 1 - DIGESTIBLE ENERGY OF CRUDE GLYCEROL FOR PACU AND SILVER CATFISH – ENERGIA DIGESTÍVEL DO GLICEROL BRUTO PARA O PACU E O JUNDIÁ	23
ABSTRACT – RESUMO.....	24
REFERENCES – REFERÊNCIAS	26
4 CAPÍTULO 2 - EFEITO DA INCLUSÃO DE GLICERINA BRUTA SOBRE O CRESCIMENTO DE JUVENIS DE JUNDIÁ <i>Rhamdia quelen</i> (QUOY & GAIMARD, 1824)	28
RESUMO	28
INTRODUÇÃO.....	29
MATERIAL E MÉTODOS.....	30
RESULTADOS	32
DISCUSSÃO.....	34
CONCLUSÃO.....	37
AGRADECIMENTOS	37
REFERÊNCIAS	37
5 CAPÍTULO 3 - DIGESTIBILIDADE APARENTE E INCLUSÃO DA GLICERINA BRUTA EM DIETAS PARA JUVENIS DE CURIMBATÁ <i>Prochilodus lineatus</i> (VALENCIENNES, 1837)	41
RESUMO	41
INTRODUÇÃO.....	42
MATERIAL E MÉTODOS.....	43
RESULTADOS	46
DISCUSSÃO.....	49

CONCLUSÃO.....	52
AGRADECIMENTOS	52
REFERÊNCIAS	52
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	57
APÊNDICE	58

1 INTRODUÇÃO GERAL

1.1 ASPECTOS GERAIS DO CULTIVO E NUTRIÇÃO DE PEIXES NO BRASIL

O Brasil contribuiu com apenas 1.264.765 t (0,75% do total) da produção mundial de pescados em 2010, sendo 785.366 t oriundas da pesca extrativa (536.455 t marinha, e 248.911 t continental) e 479.399 t da produção aquícola (MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA, 2012). No entanto, a produção aquícola nacional em 2011 foi de 628.704,3 t (544.457,9 t continental), havendo um incremento de 51,2% na produção total durante o triênio 2009-2011 (MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA, 2013).

Desta maneira, a produção brasileira de peixes de água doce se encontra em franca expansão, e já superou a pesca extrativa continental, mesmo considerando o elevado número de espécies existentes no território nacional - cerca de 2.300, segundo Reis, Kullander e Ferraris Jr. (2003) - e a presença de um diverso número de grandes bacias hidrográficas.

Contudo, o pouco conhecimento sobre as espécies nativas tem levado os criadores a escolherem as exóticas, que chegam ao país com um pacote tecnológico pronto: (i) matrizes com genética superior; (ii) métodos estabelecidos de reprodução, larvicultura e alevinagem; (iii) exigências nutricionais determinadas para todas as fases de desenvolvimento; e (iv) presença de características desejáveis como precocidade, rusticidade e alto rendimento produtivo.

Neste contexto, as rações disponíveis no mercado brasileiro são adequadas apenas às necessidades dos peixes exóticos, principalmente a tilápia do Nilo, e as espécies nativas acabam sendo nutridas de maneira imprópria. Além de proporcionar um menor desempenho dos organismos cultivados, a utilização de rações desbalanceadas ocasiona graves impactos no ambiente, uma vez que os nutrientes não aproveitados são excretados diretamente na água (MILLWARD, 1989).

A dieta ideal deve conter os nutrientes e recursos energéticos essenciais ao crescimento, reprodução e saúde, e seu valor nutricional é avaliado, primeiramente, pela presença de elementos catalíticos, como as vitaminas e minerais, e por um balanço adequado entre alimentos energéticos e construtores, como as proteínas, lipídios e carboidratos (MORAES; ALMEIDA, 2014).

A energia não é considerada um nutriente, mas o resultado da oxidação de proteínas, lipídios e carboidratos, processo que possibilita a todos os animais executarem atividades bioquímicas, fisiológicas e mecânicas, fundamentais à sobrevivência, crescimento e

reprodução (BICUDO, 2008). Para peixes, a energia disponível nos alimentos normalmente é expressa na forma de energia digestível, isto porque os peixes vivem no meio aquático, tornando-se difícil estimar tipos de energia mais acurados. Além disso, faltam estudos de determinação da digestibilidade da energia e dos nutrientes da maioria dos alimentos convencionais e alternativos disponíveis para a fabricação de rações para a maioria das espécies cultivadas (BOSCOLO et al., 2011).

A alimentação animal com subprodutos agroindustriais apresenta diversas vantagens, como a possibilidade da utilização de alimentos não empregados no consumo humano, a agregação de valor a produtos que seriam descartados, e a destinação apropriada dos mesmos, contribuindo para a diminuição dos riscos de poluição ambiental decorrentes de seu acúmulo (GUIMARÃES JUNIOR et al., 2008). O potencial poluidor está relacionado à poluição de solos e de corpos hídricos, em virtude da lixiviação de compostos (ROSA et al., 2011), e à criação de habitats para inúmeros vetores de doenças e animais peçonhentos (FURLAN JUNIOR, 2006). Além disso, pode-se baratear o custo da ração, pois estes são ingredientes alternativos ao milho e ao farelo de soja, cujos preços dependem do mercado internacional (BORGES et al., 2008).

1.2 A GLICERINA BRUTA

A glicerina bruta é o principal subproduto da indústria de biodiesel, sendo obtidos cerca de 10 kg de glicerina para cada 100 kg de biodiesel produzidos (SANTIBÁÑEZ; VARNERO; BUSTAMANTE, 2011), a partir da transesterificação de óleos vegetais ou gorduras animais com álcoois de cadeia curta na presença de um catalizador adequado (PINTO et al., 2005).

Além de glicerol, a glicerina bruta contém em sua composição a água, catalizadores (alcalino ou ácido), álcoois (etanol ou metanol), ácidos graxos livres, propanodíois, monoésteres, oligômeros de glicerina e polímeros (LIMA et al., 2014). Ainda que o termo glicerina se refira ao produto na forma comercial, com pureza acima de 95% (DROSGHIC; PEREIRA; CORASSA, 2013), muitos trabalhos científicos utilizam o termo glicerol bruto para se referir a este produto.

A glicerina purificada é amplamente utilizada na indústria de alimentos, farmacêutica e de cosméticos em virtude de sua natureza higroscópica, conteúdo energético e elevado índice de solubilidade em água (DONKIN, 2008). Contudo, a purificação é um processo de alto custo econômico (VAZ JUNIOR, 2012). Considerando o fato de que o volume projetado

da produção de glicerina bruta será superior à atual demanda comercial de glicerina purificada e que sua purificação para venda não é uma opção viável para a indústria de biodiesel, alguns usos alternativos necessitam ser encontrados (CHI et al., 2007).

A alimentação animal pode ser uma alternativa, ao menos se um grau de pureza mínimo desse ingrediente for atingido (DELLA CASA et al., 2009). O problema reside no fato de que a glicerina bruta comercializada não é um produto padronizado, apresentando diferentes graus de pureza, principalmente em função da matéria-prima e dos processos utilizados na produção do biodiesel (SILVA E OLIVEIRA et al., 2013). Em decorrência disso, os valores de energia digestível de diferentes fontes de glicerina bruta para a tilápia do Nilo variaram de 1754 a 3058 kcal kg⁻¹ da dieta (NEU et al., 2012a).

Quimicamente, o glicerol é um composto orgânico pertencente à função álcool, também chamado de 1,2,3-propanotriol (BEATRIZ; ARAUJO; LIMA, 2011), que vem sendo tratado na nutrição animal como uma fonte dietética de energia e não propriamente um nutriente, tal qual proteína ou lipídeo. Desta forma, sua utilização evita que parte desses nutrientes seja direcionada para a produção de energia, podendo ser empregada na função construtora, fato que possibilita um maior crescimento do animal.

Além de possuir valor energético semelhante ao contido pelo milho (MELO et al., 2014), o glicerol é uma molécula facilmente absorvida por difusão devido ao seu baixo peso molecular (LIMA et al., 2014). Quando absorvido, pode ser convertido em glicose, via gliconeogênese, ou oxidado para a produção de energia, via glicólise e ciclo de Krebs (ROBERGS; GRIFFIN, 1998). É utilizada como um importante substrato gliconeogênico principalmente no fígado e nos rins, com sua entrada ocorrendo na forma de gliceraldeído-3-fosfato, além de diidroxiacetona fosfato, a qual facilita, ainda, seu ingresso na via glicolítica (HAGOPIAN; RAMSEY; WEINDRUCH, 2008).

Por ser considerada uma fonte adequada de energia, a glicerina bruta passou a ser utilizada na dieta de frangos (CERRATE et al., 2006; DOZIER III et al., 2008; LAMMERS et al., 2008b; SILVA et al., 2012; SWIATKIEWICZ e KORELESKI, 2009; YALÇIN et al., 2010), ovinos (GUNN et al., 2010; LAGE et al., 2010), suínos (BERENCHTEIN et al., 2010; GROESBECK et al., 2008, HANSEN et al., 2009, KERR et al., 2009; LAMMERS et al., 2008a; ZIJLSTRA et al., 2009) e peixes (COSTA et al., 2015; GONÇALVES et al., 2015; LI et al., 2010; MEURER et al., 2012, 2015; NEU et al., 2012b, 2013), entre outras espécies.

Groesbeck et al. (2008) relatam, ainda, que seu sabor adocicado pode melhorar a palatabilidade das dietas. Ademais, devido à sua propriedade umectante, a glicerina também é eficiente na aglomeração de partículas pequenas durante a fabricação de rações, reduzindo,

dessa maneira, a poeira e mantendo a homogeneidade dos alimentos misturados (DROUILLARD, 2012). Segundo o mesmo autor, ainda auxilia diminuindo o gasto de energia relacionada ao processo de peletização e melhora a durabilidade e a qualidade higiênica das rações peletizadas.

Embora possa ser adicionada às dietas, o excesso de glicerina bruta pode afetar o metabolismo fisiológico normal dos animais, visto que a mesma contém impurezas como o metanol, sabão, catalisadores, sais e matéria orgânica não-glicerol (NITAYAVARDHANA; KHANAL, 2012; YANG; HANNA; SUN, 2012). A intoxicação aguda por metanol pode levar ao acúmulo de ácido fórmico, que gera acidose metabólica (MEDINSKY; DORMAN, 1995; SKRZYDLEWSKA, 2003).

Sob outra perspectiva, fazendo uso dos biomarcadores Teste do Micronúcleo Písceo e anormalidades nucleares e o Ensaio Cometa, Marques (2014) relata que o glicerol bruto não apresentou efeito genotóxico sobre os eritrócitos e hepatócitos de *Piaractus mesopotamicus* e *Rhamdia quelen*, mesmo quando incluído em 30% de suas dietas, podendo ser utilizado como um ingrediente alternativo na formulação de rações para peixes.

1.3 ESPÉCIES DE ESTUDO

O pacu (*Piaractus mesopotamicus*) é uma espécie da família Characidae, com hábito alimentar onívoro (TESSER et al., 2006) e facilidade de adaptação ao cultivo em tanques ou viveiros (FERNANDES; CARNEIRO; SAKOMURA, 2000). É um peixe rústico que utiliza alimentos bastante diversificados, sendo fundamental que se conheça o nível de aproveitamento dos ingredientes de sua dieta para melhorar e aperfeiçoar sua alimentação (ABIMORAD; CARNEIRO, 2004).

O curimatá (*Prochilodus lineatus*) é uma espécie presente nas bacias dos rios Paraná, Paraguai e Paraíba do Sul que tem um bom potencial para o cultivo (FROESE; PAULY, 2016). Alimenta-se basicamente de detritos orgânicos, fauna bentônica e, até mesmo, de ração (CASTAGNOLLI, 1992). Esta espécie tem apresentado bons resultados na piscicultura, com destaque ao seu baixo nível trófico, visto que aproveita alimentos de menor qualidade, e ao rápido crescimento em cultivo intensivo (FURUYA et al., 1999).

O jundiá (*Rhamdia quelen*) é uma espécie amplamente distribuída no sul do Brasil (PIAIA; BALDISSEROTTO, 2000), rústica, de rápido crescimento e que suporta baixas temperaturas (FRACALLOSSI; ZANIBONI FILHO; MEURER, 2002). Em relação à

alimentação, aceita bem dietas artificiais formuladas com diferentes ingredientes de origem animal e vegetal (PARRA, 2007).

Atualmente, o Brasil adiciona 7% de biodiesel ao diesel derivado do petróleo comercializado em seu território, porcentagem que tem previsão de aumento a 10% até o ano de 2019 (BRASIL, 2016), fato que ampliará ainda mais a produção de glicerina. A inclusão de glicerina bruta vem sendo recomendada em torno de 10% da dieta de espécies de animais tradicionalmente criados para corte. No entanto, ainda é desconhecido seu efeito sobre o crescimento e a saúde de espécies de peixes nativas, com matrizes retiradas diretamente do ambiente natural.

Desse modo, a presente tese buscou avaliar a influência da glicerina bruta na alimentação de três espécies da bacia do rio Paraná, o pacu (*P. mesopotamicus*), o curimatá (*P. lineatus*) e o jundiá (*R. quelen*) (Figura 1A). Este trabalho foi dividido em três capítulos, organizados na forma de artigos científicos:

O Capítulo 1 apresenta a quantidade de energia química contida na glicerina bruta que foi perdida durante os processos digestivos das espécies *P. mesopotamicus* e *R. quelen*, e, por conseguinte, quanto dela foi absorvida pelos indivíduos, tudo isso por meio da determinação dos valores de energia digestível deste alimento, que foram calculados a partir dos coeficientes de digestibilidade aparente obtidos após a realização de ensaios de digestibilidade.

O Capítulo 2 relata o efeito da substituição do milho pela glicerina bruta, com base nos valores de energia digestível, nas dietas de *R. quelen*, dando ênfase ao crescimento, sobrevivência, desempenho produtivo, composição corporal e parâmetros bioquímicos do sangue de juvenis dessa espécie.

Por fim, o Capítulo 3 trata da digestibilidade e da inclusão da glicerina bruta na dieta de *P. lineatus* e sua influência sobre o crescimento, sobrevivência, desempenho produtivo e parâmetros bioquímicos plasmáticos de indivíduos na fase juvenil, de modo a encorajar sua utilização como alimento também para peixes detritívoros de interesse aquícola, e não apenas para os onívoros.

REFERÊNCIAS

- ABIMORAD, E.G.; CARNEIRO, D.J. Métodos de coleta de fezes e determinação dos coeficientes de digestibilidade da fração protéica e da energia de alimentos para o pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 5, p. 1101-1109, 2004.
- BEATRIZ, A.; ARAÚJO, Y. J. K.; LIMA, D. P. Glicerol: um breve histórico e aplicação em sínteses estereosseletivas. **Química Nova**, v. 34, n. 2, p. 306-319, 2011.
- 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 Zootecnia**, v. 39, n. 7, p. 1491-1496, 2010.
- BICUDO, A. J. A. **Exigências nutricionais de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887): proteína, energia e aminoácidos**. 2008. 103 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – ESALQ/USP, Piracicaba, 2008.
- BORGES, I.; GONÇALVES, L. C.; MACEDO JR., G. L.; FERREIRA, M. I. C. 2008. **Utilização de subprodutos da agroindústria na alimentação de caprinos e ovinos**. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/894687/1/AACUtilizacaodesubprodutos.pdf>>. Acesso em: 19 nov. 2015.
- BOSCOLO, W. R.; SIGNOR, A.; FREITAS, J. M. A.; BITTENCOURT, F.; FEIDEN, A. Nutrição de peixes nativos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 145-154, 2011 (supl. especial).
- BRASIL. 2016. **Aumento do biodiesel no diesel ajudará Brasil a cumprir metas ambientais, afirma Dilma**. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/governo/2016/03/aumento-do-biodiesel-no-diesel-ajudara-brasil-a-cumprir-metas-ambientais-afirma-dilma>>. Acesso em 28 mar. 2016.
- CASTAGNOLLI, N. **Piscicultura de água doce**. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, 1992. 189 p.
- CERRATE, S.; YAN, F.; WANG, Z.; COTO, C.; SAKAKLI, P.; WALDROUP, P. W. Evaluation of glycerine from biodiesel production as a feed ingredient for broilers. **International Journal of Poultry Science**, v. 5, n. 11, p. 1001-1007, 2006.
- CHI, Z.; PYLE, D.; WEN, Z.; FREAR, C.; CHEN, S. A laboratory study of producing docosahexaenoic acid from biodiesel-waste glycerol by microalgal fermentation. **Process Biochemistry**, v. 42, p. 1537-1545, 2007.
- COSTA, D. V.; PAULINO, R. R.; OKAMURA, D.; OLIVEIRA, M. M.; VIEIRA E ROSA, P. Growth and energy metabolism of Nile tilapia juveniles fed glycerol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, p. 347-354, 2015.

DELLA CASA, G.; BOCHICCHIO, D.; FAETI, V.; MARCHETTO, G.; POLETTI, E.; ROSSI, A.; GARAVALDI, A.; PANCIROLI, A.; BROGNA, N. Use of pure glycerol in fattening heavy pigs. **Meat Science**, v. 81, p. 238-244, 2009.

DONKIN, S. S. Glycerol from biodiesel production: the new corn for dairy cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 280-286, 2008 (supl. especial).

DOZIER III, 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**, v. 87, p. 317-322, 2008.

DROSGHIC, L. C. A. B.; PEREIRA, T. L.; CORASSA, A. Inclusão de glicerol e glicerina em dietas para suínos determinados no Brasil: Revisão. **Scientific Electronic Archives**, v. 2, p. 46-49, 2013.

DROUILLARD, J. S. Utilization of crude glycerin in beef cattle. In: MAKKAR, H. P. S. (Ed.). **Biofuel co-products as livestock feed - opportunities and challenges**. Rome: FAO, 2012. p. 155-161.

FERNANDES, J. B. K.; CARNEIRO, D. J.; SAKOMURA, N. K. Fontes e níveis de proteína bruta em dietas para alevinos de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 3, p. 646-653, 2000.

FRACALOSI, D. M.; ZANIBONI FILHO, E.; MEURER, S. No rastro das espécies nativas. **Panorama da Aquicultura**, v. 12, n. 2, p. 43-49, 2002.

FROESE, R.; PAULY, D. Editors. 2016. **FishBase**. World Wide Web electronic publication. Disponível em: <www.fishbase.org>. Acesso em: 01 fev. 2016.

FURLAN JUNIOR, J. **Dendê: manejo e uso dos subprodutos e dos resíduos**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2006. 40 p

FURUYA, V. R. B.; HAYASHI, C.; FURUYA, W. M.; SOARES, C. M.; GALDIOLI, E. M. Influência de plâncton, dieta artificial e sua combinação, sobre o crescimento e sobrevivência de larvas de curimatá (*Prochilodus lineatus*). **Acta Scientiarum**, v. 21, n. 3, p. 699-703, 1999.

GONÇALVES, L. U.; CEROZI, B. S.; CASTRO SILVA, T. S.; ZANON, R. B.; CYRINO, J. E. P. Crude glycerin as dietary energy source for Nile tilapia. **Aquaculture**, v. 437, p. 230-234, 2015.

GROESBECK, C. N.; MCKINNEY, L. J.; DEROUCHAY, 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**, v. 86, p. 2228-2236, 2008.

GUIMARÃES JR., R.; MARTINS, C. F.; PEREIRA, L. G. R.; CARVALHO, M. A. **Subprodutos da agroindústria na alimentação de bovinos: caroço de algodão**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2008. 33 p.

GUNN, P. J.; SCHULTZ, A. F.; VAN EMON, M. L.; NEARY, M. K.; LEMENAGER, R. P.; RUSK, C. P.; LAKE, S. L. Effects of elevated crude glycerin concentrations on feedlot performance, carcass characteristics, and serum metabolite and hormone concentrations in finishing ewe and wether lambs. **The Professional Animal Scientist**, v. 26, p. 298-306, 2010.

HAGOPIAN, K.; RAMSEY, J. J.; WEINDRUCH, R. Enzymes of glycerol and glyceraldehyde metabolism in mouse liver: effects of caloric restriction and age on activities. **Bioscience Reports**, v. 28, n. 2, p. 107–115, 2008.

HANSEN, C. F.; HERNANDEZ, A.; MULLAN, B. P.; MOORE, K.; TREZONA-MURRAY, M.; KING, R. H.; PLUSKE, J. R. A chemical analysis of samples of crude glycerol from the production of biodiesel in Australia, and the effects of feeding crude glycerol to growing-finishing pigs on performance, plasma metabolites and meat quality at slaughter. **Animal Production Science**, v. 49, p. 154-161, 2009.

KERR, B. J.; WEBER, T. E.; DOZIER III, W. A.; KIDD, M. T. Digestible and metabolizable energy content of crude glycerin originating from different sources in nursery pigs. **Journal of Animal Science**, v. 87, p. 4042-4049, 2009.

LAGE, J. F.; PAULINO, P. V. R.; PEREIRA, L. G. R.; VALADARES FILHO, S. C.; OLIVEIRA, A. S.; DETMANN, E.; SOUZA, N. K. P.; LIMA, J. C. M. Glicerina bruta na dieta de cordeiros terminados em confinamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 9, p. 1012-1020, 2010.

LAMMERS, P. J.; KERR, B. J.; HONEYMAN, M. S.; 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. **Poultry Science**, v. 87, p. 104-107, 2008.

LAMMERS, P. J.; KERR, B. J.; WEBER, T. E.; BREGENDAHL, K.; LONERGAN, S. M.; PRUSA, K. J.; AHN, D. U.; STOFFREGEN, W. C.; DOZIER III, W. A.; HONEYMAN, M. S. Growth performance, carcass characteristics, meat quality, and tissue histology of growing pigs fed crude glycerin-supplemented diets. **Journal of Animal Science**, v. 86, p. 2962-2970, 2008.

LI, M. H.; MINCHEW, C. D.; OBERLE, D. F.; ROBINSON, E. H. Evaluation of glycerol from biodiesel production as a feed ingredient for Channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 41, p.130-136, 2010.

LIMA, D. C.; NETTO, M. V. T.; FELIX, A. P.; BORTOLO, M.; OLIVEIRA, S. G.; MAIORKA, A. Digestibilidade e energia metabolizável da glicerina em cães. **Ciência Rural**, v.44, n.8, p.1452-1456, 2014.

MARQUES, A. E. M. L. **Avaliação da genotoxicidade do glicerol bruto e do óxido de cromo III nos bioindicadores *Rhamdia quelen* e *Piaractus mesopotamicus***. 2014. 68 f. Dissertação (Mestrado em Genética) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

MEDINSKY, M. A.; DORMAN, D. C. Recent developments in methanol toxicity. **Toxicology Letters**, v. 82/83, p. 707-711, 1995.

MELO, D.S.; FARIA, P.B.; CANTARELLI, V.S.; ROCHA, M.F.M.; PINTO, A.M.B.G.; RAMOS, E.M. Qualidade da carne de suínos com uso de glicerina na alimentação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 2, p. 583-592, 2014

MEURER, F.; FRANZEN, A.; PIOVESAN, P.; ROSSATO, K. A.; SANTOS, L. D. Apparent energy digestibility of glycerol from biodiesel production for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1758). **Aquaculture Research**, v. 43, p.1734-1737, 2012.

MEURER, F.; TOVO NETO, A.; SILVA, L. C. R.; CAGOL, L.; THEISEN, M. T.; SANTOS, L. D. Crude glycerol in diets for Nile tilapia sex reversal (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1758). **Aquaculture Research**, p. 1-4. doi:10.1111/are.12714.

MILLWARD, D. J. The nutritional regulation of muscle growth and protein turnover. **Aquaculture**, v. 79, p. 1-58, 1989.

MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. 2012. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura 2010**. Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/images/Docs/Informacoes_e_Estatisticas/Boletim%20Estat%20C3%A4Dstico%20MPA%202010.pdf>. Acesso em: 13 jun. 2014.

MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. 2013. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura 2011**. Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/images/Docs/Informacoes_e_Estatisticas/Boletim%20MPA%202011FINAL.pdf>. Acesso em: 04 jun. 2014.

MORAES, G.; ALMEIDA, L. C. Nutrição e aspectos funcionais da digestão de peixes. In: BALDISSEROTTO, B.; CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C. (Orgs.). **Biologia e fisiologia de peixes Neotropicais de água doce**. Jaboticabal: FUNEP; UNESP, 2014. p. 233-252.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient requirements of fish and shrimp**. Washington: The National Academies, 2011. 376p.

NEU, D. H.; FURUYA, W. M.; BOSCOLO, W. R.; BUENO, G. W.; POTRICH, F. R.; FEIDEN, A. Energia digestível de diferentes fontes de glicerol para a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 7, p. 174-179, 2012a.

NEU, D. H.; FURUYA, W. M.; YAMASHIRO, D.; BITTENCOURT, F.; MORO, E. B.; FERNANDES, D. R. A.; BOSCOLO, W. R.; FEIDEN, A. Glicerol na dieta de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Agrarian**, v. 5, p. 288-294, 2012b.

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

NITAYAVARDHANA, S., KHANAL, S. K. Biofuel residues/wastes: ban or boon? **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 42, p.1-43, 2012.

PARRA, J. E. G. **Respostas reprodutivas de fêmeas de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentadas com diferentes fontes protéicas e lipídicas**. 2007. 93 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

PIAIA, R.; BALDISSEROTTO, B. Densidade de estocagem e crescimento de alevinos de jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824). **Ciência Rural**, v. 30, n. 3, p. 509-513, 2000.

PINTO, A. C.; GUARIEIRO, L. L. N.; REZENDE, M. J. C.; RIBEIRO, N. M.; TORRES, E. A.; LOPES, W. A.; PEREIRA, P. A. P.; ANDRADE, J. B. Biodiesel: An Overview. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 16, n. 6B, p. 1313-1330, 2005.

REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS JR., C. J. (Orgs.). **Check list of the freshwater fishes of South and Central America**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2003. 742 p.

ROSA, M. F.; SOUZA FILHO, M. S. M.; FIGUEIREDO, M. C. B.; MORAIS, J. P. S.; SANTAELLA, S. T.; LEITÃO, R. C. Valorização de resíduos da agroindústria. In: Simpósio Internacional sobre Gerenciamento de Resíduos Agropecuários e Agroindustriais, II, 2011, Foz do Iguaçu, PR. **Volume I – Palestras...** Foz do Iguaçu: Sociedade Brasileira dos Especialistas em Resíduos das Produções Agropecuária e Agroindustrial, 2011, p. 98-105.

SANTIBÁÑEZ, C.; VARNERO, M. T.; BUSTAMANTE, M.. Residual glycerol from biodiesel manufacturing, waste or potential source of bioenergy: a review. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 71, n. 3, p. 469-475, 2011.

SILVA, C. L. S.; MENTEN, J. F. M.; TRALDI, A. B.; PEREIRA, R.; ZAVARIZE, K. C.; SANTAROSA, J. Glycerine derived from biodiesel production as a feedstuff for broiler diets. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 14, n. 3, p. 193-202, 2012.

SKRZYDLEWSKA, E. Toxicological and metabolic consequences of methanol poisoning. **Toxicology Mechanisms and Methods**, v. 13, p. 277-293, 2003.

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

TESSER, M. B.; FLORES-QUINTANA, C. I.; CARNEIRO, D. J.; PIZAURO JUNIOR, J. M.; PORTELLA, M. C. Suplementação de enzimas exógenas em dieta microparticulada para larvicultura do pacu. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 6, p. 2211-2218, 2006.

VAZ JUNIOR, S. Estratégias para o uso de biomassa em química renovável. Brasília: Embrapa Agroenergia, 2012. p.16.

YALÇIN, S.; EROL, H.; ÖZSOY, B.; ONBAŞILAR, İ.; YALÇIN, S.; ÜNER, A. Effects of glycerol on performance, egg traits, some blood parameters and antibody production to SRBC of laying hens. **Livestock Science**, v. 129, p. 129-134, 2010.

YANG, F.; HANNA, M. A.; SUN, R. Value-added uses for crude glycerol – a byproduct of biodiesel production. **Biotechnology for Biofuels**, v. 5, p.13, 2012.

ZIJLSTRA, R. T.; MENJIVAR, K.; LAWRENCE, E.; BELTRANENA, E. The effect of feeding crude glycerol on growth performance and nutrient digestibility in weaned pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 89, n. 1, p. 85-89, 2009.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

O objetivo deste trabalho foi avaliar o uso da glicerina bruta nas dietas das espécies *Piaractus mesopotamicus* (pacu), *Prochilodus lineatus* (curimbatá) e *Rhamdia quelen* (jundiá) durante a fase juvenil.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) determinar a digestibilidade aparente da energia da glicerina bruta para *P. mesopotamicus*, *P. lineatus* e *R. quelen*;
- b) avaliar os efeitos da substituição do milho pela glicerina sobre o crescimento, desempenho produtivo, composição corporal e parâmetros bioquímicos plasmáticos de *R. quelen*;
- c) avaliar os efeitos da inclusão da glicerina sobre o crescimento, desempenho produtivo e parâmetros bioquímicos plasmáticos de *P. lineatus*;
- d) disponibilizar dados sobre a utilização nutricional correta dessa fonte energética na alimentação dos juvenis das espécies em questão.

3 CAPÍTULO 1

Digestible energy of crude glycerol for pacu and silver catfish[#]

Energia digestível do glicerol bruto para o pacu e o jundiá

Rafael Ernesto Balen^{I*}, Patrick Nereu Tetu^{II}, Robie Allan Bombardelli^{III}, Paulo Cesar Pozza^{IV}
e Fábio Meurer^{I,III}

^I Programa de Pós-graduação em Zoologia, Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Paraná (UFPR), CP 19020, 81531-980, Curitiba, PR, Brasil. E-mail: rebalen@yahoo.com.br. *Autor para correspondência.

^{II} Curso Superior de Tecnologia em Aquicultura, UFPR, Palotina, PR, Brasil.

^{III} Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável, UFPR, Palotina, PR, Brasil.

^{IV} Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, PR, Brasil.

[#] Artigo publicado na revista Ciência Rural

Digestible energy of crude glycerol for pacu and silver catfish

Energia digestível do glicerol bruto para o pacu e o jundiá

Rafael Ernesto Balen^{I*} Patrick Nereu Tetu^{II} Robie Allan Bombardelli^{III}
Paulo Cesar Pozza^{IV} Fábio Meurer^{I,III}

– NOTE –

ABSTRACT

The increase in global biodiesel production is originating a glycerol surplus, which has no defined destination. An alternative to overcome this problem is its use as energy source in animal feeding. In Brazil, Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) is one of the most farmed native fish species, whereas Silver catfish (*Rhamdia quelen*) is suitable for production in subtropical region. Considering little knowledge about crude glycerol utilization in feeds for Neotropical fish species, it was evaluated the apparent digestibility coefficients (ADCs) for energy of crude glycerol for *P. mesopotamicus* and *R. quelen*. The digestibility and digestible energy content of crude glycerol can be considered excellent even when compared to energy of common ingredients such as maize and wheat, presenting 0.97 and 0.89 of energy ADCs, and 15.2 and 13.95MJ kg⁻¹ of digestible energy for Pacu and Silver catfish, respectively. In conclusion, crude glycerol is an energetic ingredient with good potential in Brazilian native fish diets.

Key words: byproduct, glycerin, non-protein energy, nutrition.

RESUMO

O aumento na produção mundial de biodiesel está gerando um excesso de glicerol, sem destinação definida. Uma alternativa para superar este problema é seu uso como fonte de energia na alimentação animal. No Brasil, o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) é uma das espécies de peixes nativas mais cultivadas, enquanto que o jundiá (*Rhamdia quelen*) é apropriado para a produção na região subtropical. Considerando a falta de conhecimento sobre a utilização do glicerol bruto em rações para espécies de peixes Neotropicals, determinaram-se os coeficientes de digestibilidade aparente (CDAs) para a energia do glicerol bruto em *P. mesopotamicus* e *R. quelen*. A digestibilidade e o conteúdo de energia digestível do glicerol bruto podem ser considerados excelentes, mesmo quando comparados à energia de ingredientes

comuns, como o milho e o trigo, apresentando para energia CDA de 0,97 e 0,89, e 15,2 e 13,95MJ kg⁻¹ de energia digestível para o pacu e o jundiá, respectivamente. Por fim, o glicerol bruto é um ingrediente energético com bom potencial para dietas de peixes nativos do Brasil.

Palavras-chave: subproduto, glicerina, energia não-proteica, nutrição.

South America has the richest ichthyofauna of all continents (SAINT-PAUL, 1986). Among these species, the Pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg) stands out for its easy adaptation to be farmed and to consume a diverse number of feedstuffs (ABIMORAD & CARNEIRO, 2004). On the other hand, Silver catfish *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard) is an omnivorous fish with interest for aquaculture in Brazil, Argentina, and Uruguay (SALHI & BESSONART, 2012), because it withstands cold winters and presents fast growth rate in summer, characteristics that make it a suitable species for fish production in southern South America (PEREIRA et al., 2006).

Glycerol is the main byproduct generated in biodiesel production (DASARI et al., 2005), an alternative fuel obtained from renewable lipids such as those in vegetable oils or animal fat (LUCENA et al., 2008). It is estimated that by 2016 the world biodiesel market will achieve the quantity of 37 billion gallons, which means that more than 4 billion gallons of crude glycerol will be produced every year (KOŚMIDER et

^IPrograma de Pós-graduação em Zoologia, Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Paraná (UFPR), CP 19020, 81531-980, Curitiba, PR, Brasil. E-mail: rebalen@yahoo.com.br. *Autor para correspondência.

^{II}Curso Superior de Tecnologia em Aquicultura, UFPR, Palotina, PR, Brasil.

^{III}Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável, UFPR, Palotina, PR, Brasil.

^{IV}Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, PR, Brasil.

al., 2011). Such glycerol surplus will not only result in a further reduction in prices, but the disposal of these streams will become a major issue (MCCOY, 2006).

The development of new markets to absorb the crude glycerol production can reduce its accumulation, as well as establish a sustainable industrial chain for biofuels. Crude glycerol utilization in fish diets was reported only to Channel catfish (LI et al., 2010) and Nile tilapia (NEU et al., 2012a, 2013). There are no studies on the digestible energy of glycerol in Neotropical fish species, and little information published is restricted to Nile tilapia (MEURER et al., 2012; NEU et al., 2012b). The present study aimed to determine the apparent digestibility coefficients (ADCs) of crude glycerol energy for *P. mesopotamicus* and *R. quelen*.

The experiment was performed at Aquatic Organisms Nutrition Laboratory of Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina, Paraná State, Brazil. Crude glycerol was provided by BSBIOS Indústria e Comércio de Biodiesel Sul Brasil S/A, Passo Fundo, Rio Grande do Sul State, Brazil. Due to its high hygroscopic degree, crude glycerol was dried in a ventilated drying oven at 55°C for 24h before ration manufacture. ADCs for energy were measured indirectly using 0.1% of chromic oxide (Cr₂O₃) as an inert marker. The reference and test diets were formulated and pelletized based on vegetable food (Table 1).

The fish were housed in one cage (100L) per species. For each species, a polyethylene circular tank (1,000L) was utilized as feeding tank and a cylinder-conical tank (150L) as a faecal collecting tank. Feeding and feces collection tanks were aerated

continuously (>5mg L⁻¹) and temperature was maintained by thermostatic heaters at 28±1.5°C.

Fish juveniles (Pacu, 129.06±29.27g, 18.46±1.52cm, n=25; Silver catfish, 69.06±12.77g, 19.79±1.14cm, n=30) were submitted to an adaptation period (5 days) to the experimental conditions and diets. Thereafter, fish were kept in cages at feeding tanks from 07:30 to 18:00h, fed once in the morning (at 11:00 hours) and from 16:30 to 17:40h, until apparent satiation. After 20min of last feeding, the fish were transferred to cylinder-conical tanks, where they remained until 07:30h of the following morning, when these came back again to feeding tanks. The techniques used for the faecal collection and processing were the same as adapted by Meurer et al. (2012).

Gross energy content was measured by combustion in an adiabatic bomb calorimeter (Parr Instruments, Moline, IL, USA, model Parr 6200), and chromic oxide was determined using a process involving perchloric and nitric acid digestion followed by atomic absorption spectrometric determination (KIMURA & MILLER, 1957). The crude glycerol energy ADCs values were calculated according to NRC (2011).

Crude glycerol presented 15.67MJ kg⁻¹ of gross energy, 93.24% of dry matter, and 6.06% of ash. Energy ADCs were 0.97 and 0.89, and digestible energy were 15.2 and 13.95MJ kg⁻¹, for Pacu and Silver catfish, respectively.

ADCs results and digestible energy content to crude glycerol determined in this study were higher than those described to Nile tilapia by MEURER et al. (2012) (0.89 and 13.09MJ kg⁻¹) and NEU et al. (2012b) (0.81 and 10.91MJ kg⁻¹ to semi-purified mixture glycerol, 0.58 and 12.78MJ kg⁻¹ to crude vegetable oil glycerol, and 0.47 and 7.33MJ kg⁻¹ to semi-purified vegetable glycerol, respectively).

Compared to the ADCs and digestible energy values from other energy ingredients for Pacu, glycerol was higher than wheat meal (0.81 and 13.84MJ kg⁻¹, respectively), maize (0.87 and 14.48MJ kg⁻¹), and sorghum (0.93 and 14.51MJ kg⁻¹), and lower than rice meal (0.93 and 17.60MJ kg⁻¹) (ABIMORAD & CARNEIRO, 2004). FERNANDES et al. (2004) observed lower values for digestible energy in maize (14.02MJ kg⁻¹) and wheat bran (7.46MJ kg⁻¹) for *Piaractus brachyomus* (Cuvier).

When it comes to Silver catfish, these values were higher than those reported by OLIVEIRA FILHO & FRACALOSSO (2006) for maize (0.59 and 9.62MJ kg⁻¹) and broken rice (0.64 and 10.28 MJ kg⁻¹). Regarding another Neotropical catfish species, TEIXEIRA et al. (2010) described ADCs values of gross energy for maize (0.62), rice bran (0.66), broken rice (0.46), and

Table 1 - Composition of experimental feeds (g kg⁻¹).

Ingredient	Reference diet	Test diet
Soybean meal	661.6	463.1
Maize	290.7	203.5
Soybean oil	11.1	7.8
Dicalcic phosphate	18.4	18.4
Calcitic lime	2.2	2.2
Mineral and vitamin supplement ¹	10.0	10.0
Salt	5.0	5.0
Cr ₂ O ₃	1.0	1.0
Glycerol	-	289.0

¹Warranty levels per product kilogram: Vit. A, 1,200,000UI, Vit. D3, 200,000UI, Vit. E, 12,000mg, Vit. K3, 2,400mg, Vit. B1, 4,800mg, Vit. B2, 4,800mg, Vit. B6, 4,000mg, Vit. B12, 4,800mg, Folic acid, 1,200mg, Pantotenate Ca, 12,000mg, Vit. C, 48,000mg, Biotin, 48mg, Coline, 65,000mg, Niacin, 24,000mg, Fe, 10,000mg, Cu, 6,000mg, Mn, 4,000mg, Zn, 6,000mg, I, 20mg, Co, 2mg, Se, 20mg.

sorghum (0.47) for sorubim (*Pseudoplatystoma* sp.). Moreover, GONÇALVES & CARNEIRO (2003) observed values of 0.64 for maize, 0.48 for sorghum, 0.51 for rice bran, and 0.47 for broken rice in spotted sorubim *P. corruscans* (Spix & Agassiz) diets, and SILVA et al. (2013) reported for striped sorubim (*P. reticulatum* Eigenmann & Eigenmann) ADC values of 0.43 for maize.

All these values were lower than those of gross energy ADCs of crude glycerol determined in this study for silver catfish, probably due to their different chemical compositions. The above mentioned ingredients have a lot of starch in its composition, which is not well utilized by fish, especially carnivorous species, characteristic related to the utilization of carbohydrates (SHIAU, 1997) or glucose intolerance (MOON, 2001) in fish.

The good energy digestibility determined for glycerol as well as the amount of digestible energy can be related to the ease in which this nutrient is digested, absorbed and used by both species. According to LIN (1977), glycerol is absorbed in the intestine, enters into the bloodstream and subsequently is used by liver and tissues for glucose synthesis by gluconeogenesis or energy production by glycolysis and citric acid cycle.

These results show the possibility of crude glycerol to be used as energy source in Pacu and Silver catfish diets. The current increase in biofuel production originates a large surplus of crude glycerol and its use in feed formulation could reduce costs and improve profits of both productive chains. Therefore, additional experiments must be performed to evaluate crude glycerol replacing other energy sources in fish diets, to evaluate its productive performance, feed efficiency and body composition in different phases of growth.

Crude glycerol derived from the biodiesel production is an energy source with good potential for omnivorous fish species, presenting ADC of 0.97 and 0.89, and digestible energy content of 15.2 and 13.95MJ kg⁻¹ as fed basis for Pacu and Silver catfish, respectively.

ACKNOWLEDGMENTS

Rafael Ernesto Balen received a fellowship from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), grant n.140202/2012-9.

ETHICS COMMITTEE AND BIOSECURITY

This study was approved by Ethical Committee on Animal Experimentation of the Universidade Federal do Paraná (Protocol n.14/2011 - CEUA Campus Palotina).

REFERENCES

- ABIMORAD, E.; CARNEIRO, D.J. Fecal collection methods and determination of crude protein and of gross energy digestibility coefficients of feedstuffs for pacu, *Piaractus mesopotamicus* (HOLMBERG, 1887). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.33 n.5, p.1101-1109, 2004. Available from: <<http://www.scielo.br/pdf/rbz/v33n5/a01v33n5.pdf>>. Accessed: May 22, 2013. doi: 10.1590/S1516-35982004000500001.
- DASARI, M.A. et al. Low-pressure hydrogenolysis of glycerol to propylene glycol. *Applied Catalysis A: General*, v.281, n.1-2, p.225-231, 2005. Available from: <http://ac.els-cdn.com/S0926860X0400941X/1-s2.0-S0926860X0400941X-main.pdf?_tid=5f884c26-a0ac-11e3-a4b3-00000aacb360&acdnat=1393614975_c5190babbe0622f9397647a0003124ae>. Accessed: Oct. 11, 2011. doi: 10.1016/j.apcata.2004.11.033.
- FERNANDES, J.B.K. et al. Apparent digestible energy and nutrient digestibility coefficients of diet ingredients for pacu *Piaractus brachyomus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, v.35, n.2, p.237-244, 2004. Available from: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1749-7345.2004.tb01080.x/pdf>>. Accessed: May 22, 2013. doi: 10.1111/j.1749-7345.2004.tb01080.x.
- GONÇALVES, E.G.; CARNEIRO, D.J. Coeficientes de digestibilidade aparente da proteína e energia de alguns ingredientes utilizados em dietas para o pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.32, n.4, p.779-786, 2003. Available from: <<http://www.scielo.br/pdf/rbz/v32n4/17853.pdf>>. Accessed: Apr. 16, 2013. doi: 10.1590/S1516-35982003000400001.
- KIMURA, F.T.; MILLER, V.L. Improved determination of chromic oxide in cow feed and feces. *Journal of Agricultural Foodstuffs Chemistry*, v.5, p.216, 1957.
- KOŠMIDER, A. et al. Improved utilization of crude glycerol by-product from biodiesel production. In: MONTERO, G. (Ed.). *Biodiesel - Quality, emissions and by-products*. Rijeka: InTech, 2011. p.341-364. Available from: <<http://www.intechopen.com/books/biodiesel-quality-emissions-and-by-products/improved-utilization-of-crude-glycerol-by-product-from-biodiesel-production>>. Accessed: Nov. 25, 2012.
- LI, M.H. et al. Evaluation of glycerol from biodiesel production as a feed ingredient for channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, v.41, n.1, p.130-136, 2010. Available from: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1749-7345.2009.00320.x/pdf>>. Accessed: Apr. 16, 2013. doi: 10.1111/j.1749-7345.2009.00320.x.
- LIN, E.C.C. Glycerol utilization and its regulation in mammals. *Annual Review of Biochemistry*, v.46, p.765-795, 1977. Available from: <<http://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.bi.46.070177.004001>>. Accessed: Sept. 29, 2012. doi: 10.1146/annurev.bi.46.070177.004001.
- LUCENA, I.L. et al. Biodiesel production by esterification of oleic acid with methanol using a water adsorption apparatus. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, v.47, n.18, p.6885-6889, 2008. Available from: <<http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ie800547h>>. Accessed: Oct. 11, 2011. doi: 10.1021/ie800547h.
- MCCOY, M. Glycerin surplus. *Chemical & Engineering News*, v.84, n.6, p.7, 2006. Available from: <<http://pubs.acs.org/doi/>

- pdf/10.1021/cen-v084n006.p007a>. Accessed: Oct. 11, 2011. doi: 10.1021/cen-v084n006.p007a.
- MEURER, F. et al. Apparent energy digestibility of glycerol from biodiesel production for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1758). **Aquaculture Research**, v.43, n.11, p.1734-1737, 2012. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2109.2011.02974.x/pdf>. Accessed: Jan. 30, 2013. doi: 10.1111/j.1365-2109.2011.02974.x.
- MOON, T.W. Glucose intolerance in teleost fish: fact or fiction? **Comparative Biochemistry and Physiology B**, v.129, n.2-3, p.243-249, 2001. Available from: <http://ac.els-cdn.com/S1096495901003165/1-s2.0-S1096495901003165-main.pdf?_tid=e1ebb598-a207-11e3-8889-00000aab0f27&acdnat=1393764229_f17293b4279a9a45aefbec0883fc0f6>. Accessed: Jun. 23, 2011. doi: 10.1016/S1096-4959(01)00316-5.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient requirements of fish and shrimp**. Washington: The National Academies, 2011. Chapt.12, p.253-271.
- NEU, D.H. et al. Glicerol na dieta de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Agrarian**, v.5, n.17, p.288-294, 2012a. Available from: <http://www.periodicos.ufgd.edu.br/index.php/agrarian/article/view/1701/1101>. Accessed: Jan. 30, 2013.
- NEU, D.H. et al. Energia digestível de diferentes fontes de glicerol para a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.7, n.1, p.174-179, 2012b. Available from: <http://www.agraria.pro.br/sistema/index.php?journal=agraria&page=article&op=view&path%5B%5D=agraria_v7i1a1501&path%5B%5D=1091>. Accessed: Jan. 30, 2013. doi: 10.5039/agraria.v7i1a1501.
- NEU, D.H. et al. Glycerol inclusion in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles. **Aquaculture Nutrition**, v.19, n.2, p.211-217, 2013. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2095.2012.00968.x/pdf>. Accessed: June 18, 2013. doi: 10.1111/j.1365-2095.2012.00968.x.
- OLIVEIRA FILHO, P.R.C.; FRACALOSSO, D.M. Coeficientes de digestibilidade aparente de ingredientes para juvenis de jundiá. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1581-1587, 2006. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/rbz/v35n4s0/a02v354s.pdf>. Accessed: Mar. 12, 2012. doi: 10.1590/S1516-35982006000600002.
- PEREIRA, C.R. et al. Embryonic and larval development of jundiá (*Rhamdia quelen*, Quoy & Gaimard, 1824, Pisces, Teleostei), a South American catfish. **Brazilian Journal of Biology**, v.66, n.4, p.1057-1063, 2006. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/bjb/v66n4/12.pdf>. Accessed: Mar. 12, 2012. doi: 10.1590/S1519-69842006000600013.
- SAINT-PAUL, U. Potential for aquaculture of South American freshwater fishes: a review. **Aquaculture**, v.54, n.3, p.205-240, 1986. Available from: <http://ac.els-cdn.com/0044848686903297/1-s2.0-0044848686903297-main.pdf?_tid=0420791e-a208-11e3-a4fe-00000aacb360&acdnat=1393764286_7b705ca7330c0c81c30625a5f9b37a7b>. Accessed: Mar. 12, 2012. doi: 10.1016/0044-8486(86)90329-7.
- SALHI, M.; BESSONART, M. Growth, survival and fatty acid composition of *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard, 1824) larvae fed on artificial diet alone or in combination with *Artemia nauplii*. **Aquaculture Research**, v.44, n.1, p.41-49, 2012. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2109.2011.03004.x/pdf>. Accessed: Apr. 10, 2013. doi: 10.1111/j.1365-2109.2011.03004.x.
- SHIAU, S.Y. Utilization of carbohydrates in warmwater fish – with particular reference to tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. **Aquaculture**, v.151, n.1-4, p.79-96, 1997. Available from: <http://ac.els-cdn.com/S0044848696014913/1-s2.0-S0044848696014913-main.pdf?_tid=2395f940-a208-11e3-a1fc-00000aab0f6c&acdnat=1393764339_5be8dff5cad0c8a9c5218ab0e5773781>. Accessed: Aug. 17, 2012. doi: 10.1016/S0044-8486(96)01491-3.
- SILVA, T.S.C. et al. Digestibility of feed ingredients for the striped surubim *Pseudoplatystoma reticulatum*. **Aquaculture Nutrition**, v.19, n.4, p.491-498, 2013. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/anu.12000/pdf>. Accessed: Sept. 15, 2013. doi: 10.1111/anu.12000.
- TEIXEIRA, E.A. et al. Coeficientes de digestibilidade aparente de alimentos energéticos para juvenis de surubim. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.6, p.1180-1185, 2010. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/rbz/v39n6/03.pdf>. Accessed: Aug. 19, 2012. doi: 10.1590/S1516-35982010000600003.

4 CAPÍTULO 2

EFEITO DA INCLUSÃO DE GLICERINA BRUTA SOBRE O CRESCIMENTO DE JUVENIS DE JUNDIÁ *Rhamdia quelen* (QUOY & GAIMARD, 1824)[#]

[#] Este manuscrito será submetido à revista Aquaculture Research

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da substituição do milho pela glicerina bruta na dieta sobre o crescimento, desempenho produtivo, parâmetros bioquímicos do sangue e composição corporal de juvenis de jundiá *Rhamdia quelen*. Para tanto, 432 juvenis (peso inicial de $14,39 \pm 3,46$ g) foram distribuídos em 24 caixas de 1000 L em um delineamento inteiramente ao acaso, com seis tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos consistiram de seis dietas contendo níveis de substituição do milho pela glicerina bruta (0, 20, 40, 60, 80 e 100%), com base na energia digestível de cada um. Entre os parâmetros de crescimento, não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) para o peso final, comprimento total, comprimento padrão, comprimento de cabeça e largura. Somente a altura variou ($p < 0,05$) entre os níveis de substituição do milho pela glicerina bruta. Entre os parâmetros de desempenho produtivo, ocorreu influência dos tratamentos ($p < 0,05$) sobre o rendimento de carcaça sem cabeça e o rendimento de tronco limpo. As dietas não influenciaram ($p > 0,05$) o ganho de peso, rendimento de carcaça com cabeça, índice hepatossomático e a taxa de sobrevivência. Os parâmetros bioquímicos do sangue glicose plasmática, proteínas totais, triglicerídeos e colesterol total não foram afetados pelos tratamentos ($p > 0,05$). Na composição corporal, apenas a gordura variou ($p < 0,05$) com os níveis de substituição, havendo, ainda, efeito quadrático ($y = 0,000213x^2 - 0,03270x + 1,961$; $r^2 = 0,71$), com a menor percentagem sendo estimada no nível de 76,76% de substituição. Concluiu-se que a substituição de 76,76% do milho pela glicerina bruta na dieta de jundiá promove menor teor de gordura na carcaça, sem afetar o crescimento, sobrevivência, desempenho produtivo e os parâmetros bioquímicos do sangue de juvenis.

Palavras-chave: Alimento alternativo, energia não-proteica, glicerol bruto, peixe nativo do Brasil.

INTRODUÇÃO

O jundiá, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) (Siluriformes: Heptapteridae), é um peixe de água doce que possui hábito alimentar onívoro com tendência à piscivoria (Olaya-Nieto et al., 2012) e ocorre desde a parte central da Argentina até o sul do México (Silfvergrip, 1996). É a principal espécie criada na porção meridional da América do Sul devido seu rápido crescimento durante os meses mais quentes e suportar invernos rigorosos (Pereira et al., 2006; Salhi and Bessonart, 2012).

O milho é um insumo utilizado para a produção de uma centena de produtos, porém, a cadeia produtiva de suínos e aves é responsável pelo consumo de cerca de 70% do milho produzido no mundo e de 70 a 80% do milho produzido no Brasil (Duarte et al., 2009). O uso de ingredientes que competem com a alimentação humana, como o milho e a soja, tem despertado interesse para que sejam avaliados resíduos e subprodutos agrícolas com potencial para a alimentação animal (Klinger et al., 2015).

O processo de produção de biodiesel gera grandes quantidades de glicerina bruta, o principal subproduto e que representa cerca de 10% da produção total (Costa et al., 2015). No intuito de evitar futuros problemas decorrentes do acúmulo de glicerina e para tornar a produção de biodiesel mais competitiva, é necessário buscar alternativas para o uso desse produto (Ooi et al., 2004). Nesse ponto, a aquicultura também pode se beneficiar com a inclusão de glicerina bruta como fonte de energia alternativa na dieta de peixes.

O primeiro estudo sobre a utilização do glicerol bruto na dieta de peixes foi realizado com o bagre do canal e não levou em conta seu valor digestível (Li et al., 2010). Ensaios de digestibilidade aparente revelaram que esse ingrediente fornece para a tilápia do Nilo um conteúdo energético semelhante ao do milho (Meurer et al., 2012; Neu et al., 2012a). Por conseguinte, o glicerol bruto derivado da produção de biodiesel começou a ser incluído na dieta dessa espécie, sendo recomendado durante a fase de reversão sexual em até 11% da dieta (Meurer et al., 2015), e em até 10% da dieta de indivíduos juvenis (Neu et al., 2013).

Recentemente, especial atenção tem sido dada ao metabolismo energético de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados com glicerol. Mesmo não prejudicando o crescimento de juvenis quando incluído em até 12%, o melhor ganho de peso foi alcançado com sua inclusão em 5,9% da dieta (Gonçalves et al., 2015). Além disso, níveis de inclusão acima de 10% o caracterizaram como nutriente lipogênico (Costa et al., 2015).

Para *R. quelen*, o glicerol bruto apresentou energia digestível superior ao encontrado para o milho e outros alimentos energéticos utilizados na sua alimentação (Balén et al., 2014). No entanto, ainda é desconhecido o efeito da inclusão ou mesmo da substituição do milho pela glicerina bruta na dieta de espécies nativas das grandes bacias hidrográficas brasileiras.

O objetivo do presente trabalho foi testar a influência da substituição do milho pela glicerina bruta, com base nas respectivas energias digestíveis, sobre o crescimento, desempenho produtivo e parâmetros bioquímicos do sangue de juvenis de jundiá (*R. quelen*).

MATERIAL E MÉTODOS

Para o experimento foram utilizados 432 juvenis de jundiá *R. quelen* (peso inicial de $14,39 \pm 3,46$ g e comprimento total de $11,81 \pm 0,99$ cm) em delineamento inteiramente ao acaso, com seis tratamentos e quatro repetições. A unidade experimental consistiu em uma caixa de fibra de vidro de 1.000L contendo 18 peixes. Todas as 24 caixas fizeram parte de um sistema fechado de recirculação de água (66.000 L) com filtração física e biológica.

A temperatura da água ($28,54 \pm 1,30$ °C) e o oxigênio dissolvido ($>6,1$ mg L⁻¹) foram mensurados uma vez ao dia, e o pH ($8,61 \pm 0,57$), uma vez por semana. A taxa de renovação diária da água foi em torno de 9 vezes o volume total, sendo corrigida semanalmente.

Os tratamentos consistiram de uma dieta controle (sem adição de glicerina) e cinco níveis de substituição do milho pela glicerina bruta derivado da produção de biodiesel (20, 40, 60, 80 e 100%). A glicerina bruta foi obtida junto à BSBIOS Indústria e Comércio de Biodiesel Sul Brasil S/A, de Marialva, Paraná, Brasil, e apresentou em sua composição de 82% a 85% de pureza, 5,5% em cloretos, de 5% a 5,5% de cinzas e de 10% a 13% de umidade, segundo informações fornecidas pelo fabricante.

Todas as dietas formuladas para serem isoproteicas e isoenergéticas (Tabela 1). Os valores centesimais de proteína bruta, extrato etéreo, umidade e cinzas foram obtidos seguindo os métodos descritos por AOAC (1995). Os ingredientes foram moídos em moinho de facas e martelo utilizando uma peneira de 0,5 mm, sendo posteriormente misturados e submetidos ao processo de extrusão. As rações foram secas por 24h em estufa de ventilação forçada a 55 °C. Os peixes foram alimentados *ad libitum* três vezes ao dia (8:00, 13:00 e 18:00), durante 30 dias.

Ao final do período experimental e após serem mantidos em jejum de 12 horas, os juvenis foram anestesiados com uma solução de benzocaína (100 mg L⁻¹), pesados e medidos

para obtenção dos dados de comprimento total, comprimento padrão, comprimento de cabeça, altura, largura e ganho de peso.

Além disso, três espécimes de cada tratamento tiveram o sangue coletado e posteriormente foram mortos por secção cervical, eviscerados e limpos para obtenção dos dados de rendimento de carcaça com cabeça, rendimento de carcaça sem cabeça e rendimento de tronco limpo. Os fígados também foram removidos e pesados, para calcular o índice hepatossomático.

Os peixes remanescentes foram eutanasiados com superdosagem da solução de benzocaína (250 mg L⁻¹) e armazenados em freezer (-16 °C) para futura análise bromatológica. Os valores centesimais de proteína bruta, gordura, umidade e cinzas das carcaças foram obtidos de acordo com os métodos descritos por AOAC (1995).

Tabela 1. Formulação e composição química das dietas experimentais

Alimentos	Nível de substituição (%)					
	0	20	40	60	80	100
Farelo de soja	67,185	67,889	68,593	69,297	70,002	70,706
Milho moído	22,883	18,306	13,730	9,153	4,577	0,000
Farinha de peixe	5,000	5,000	5,000	5,000	5,000	5,000
Óleo de soja	2,064	1,788	1,510	1,233	0,956	0,679
Premix vitamínico-mineral ¹	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Fosfato bicálcico	1,233	1,270	1,308	1,345	1,381	1,418
Calcário	0,125	0,289	0,453	0,617	0,781	0,946
Sal comum	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500
BHT	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
Glicerina bruta	0,000	3,948	7,896	11,845	15,793	19,741
Total	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000
Composição analisada (n = 3)						
Cinzas (%)	7,90	7,28	7,60	7,96	8,30	8,01
Energia digestível (kcal kg ⁻¹)*	3400,00	3400,00	3400,00	3400,00	3400,00	3400,00
Extrato etéreo (%)	2,07	2,35	2,54	2,43	2,09	1,26
Matéria seca (%)	94,77	91,11	90,75	88,61	89,73	87,07
Proteína digestível (%)*	32,00	32,00	32,00	32,00	32,00	32,00
Proteína bruta (%)	40,11	37,68	38,13	37,76	37,09	38,90

¹ Níveis de garantia por quilograma de produto: Ácido fólico: 200 mg, Ácido pantotênico: 4.000 mg; Biotina: 40 mg; Cobre: 2.000 mg; Ferro: 12.500 mg; Iodo: 200 mg; Manganês: 7.500 mg; Niacina: 5.000 mg; Selênio: 70 mg; Vitamina A: 1.000.000 UI; Vitamina B1: 1.900 mg; Vitamina B12: 3.500 mg; Vitamin B2: 2.000 mg; Vitamina B6: 2.400 mg; Ácido ascórbico: 50.000 mg; Vitamina D3: 500.000 UI; Vitamina E: 20.000 UI; Vitamina K3: 500 mg; Zinco: 25.000 mg. * Valores calculados de acordo com Balen et al. (2014) e Oliveira Filho e Fracalossi (2006).

As amostras de sangue, cada uma com cerca de 1,5 mL, foram obtidas por meio de punção caudal usando seringa heparinizada (Figura 2A) e, então, centrifugadas a 3500 rpm

por 7 min para separação do plasma. As análises bioquímicas para determinação de glicose, proteínas totais, triglicerídeos e colesterol total foram realizadas utilizando kits Gold Analisa Diagnóstica[®], de acordo com as recomendações do fabricante, com a leitura sendo realizada no Analisador Bioquímico Quick Lab II[®].

Os dados de crescimento corporal, desempenho produtivo, parâmetros bioquímicos do sangue e composição de carcaça foram analisados por one-way ANOVA. As médias resultantes com diferença estatística entre os tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, com um nível de significância de 5%. Os parâmetros de desempenho e composição corporal também foram submetidos à análise de regressão polinomial. O software utilizado foi o Minitab[®] 17 e os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão.

RESULTADOS

Os resultados de peso final, comprimento total, comprimento padrão, comprimento de cabeça, altura e largura estão presentes na Tabela 2. Observou-se influência dos níveis de substituição do milho pela glicerina bruta ($p < 0,05$) somente na altura dos peixes, que foi maior no tratamento sem a inclusão da glicerina, seguida pelas dietas 20, 60 e 80%, e menor na substituição de 40 e 100%. Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) para o peso final, comprimento total, comprimento padrão, comprimento de cabeça e largura.

Tabela 2. Parâmetros de crescimento de juvenis de jundiá alimentados durante 30 dias com dietas contendo níveis crescentes de glicerina bruta em substituição ao milho

Variável	Níveis de substituição do milho pela glicerina bruta (%)					
	0	20	40	60	80	100
PF ¹	25,76 \pm 1,36	25,02 \pm 1,61	22,66 \pm 2,09	23,13 \pm 1,18	23,56 \pm 2,12	22,70 \pm 1,74
CT ²	13,50 \pm 0,24	13,49 \pm 0,19	13,06 \pm 0,27	13,17 \pm 0,14	13,35 \pm 0,38	13,34 \pm 0,24
CP ³	11,16 \pm 0,17	11,10 \pm 0,18	10,77 \pm 0,20	10,88 \pm 0,09	10,96 \pm 0,28	10,97 \pm 0,17
CC ⁴	3,32 \pm 0,09	3,44 \pm 0,16	3,26 \pm 0,17	3,24 \pm 0,06	3,31 \pm 0,09	3,23 \pm 0,08
AL ⁵	2,12 \pm 0,03a	2,04 \pm 0,04ab	1,94 \pm 0,09b	1,97 \pm 0,08ab	2,02 \pm 0,03ab	1,94 \pm 0,05b
LG ⁶	1,97 \pm 0,05	2,00 \pm 0,14	1,95 \pm 0,10	1,91 \pm 0,05	1,97 \pm 0,13	1,89 \pm 0,04

¹ Peso final médio (g); ² Comprimento total (cm); ³ Comprimento padrão (cm); ⁴ Comprimento de cabeça (cm); ⁵ Altura (cm); ⁶ Largura (cm). Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Dentre os parâmetros de desempenho (Tabela 3), apenas o rendimento de carcaça sem cabeça e o rendimento de tronco limpo foram influenciados pelas dietas ($p < 0,05$). Para ambos, os melhores resultados foram obtidos com a dieta de 20%, seguidos das dietas controle (0%), 60, 80 e 100%, e os menores valores no nível de 40%. Não houve diferença

significativa ($p>0,05$) entre os tratamentos no ganho de peso, rendimento de carcaça com cabeça, índice hepatossomático e taxa de sobrevivência. Os peixes de todos os tratamentos receberam tratamento com sal ($1,0 \text{ g L}^{-1}$) durante as duas últimas semanas do experimento, devido à incidência do íctio, uma doença causada pelo parasita *Ichthyophthirius multifiliis*, que causou aumento na mortalidade dos animais.

Tabela 3. Desempenho produtivo de juvenis de jundiá alimentados durante 30 dias com dietas contendo níveis crescentes de glicerina bruta em substituição ao milho

Variável	Níveis de substituição do milho pela glicerina bruta (%)					
	0	20	40	60	80	100
GPM ¹	12,09±1,41	11,34±1,56	9,03±2,00	9,41±1,16	9,87±2,19	9,00±1,57
RCC ²	83,88±1,87	85,06±0,51	84,47±1,31	84,76±0,64	84,92±0,84	83,84±1,89
RCS ³	56,70±0,93ab	57,76±1,03a	54,89±1,09b	56,35±1,02ab	55,82±1,48ab	56,17±1,17ab
RTL ⁴	53,67±0,58ab	54,47±0,80a	51,76±1,61b	53,01±0,83ab	52,57±1,31ab	53,14±1,44ab
IHS ⁵	1,90±0,15	1,99±0,33	2,08±0,44	1,73±0,13	2,01±0,36	1,70±0,21
SOB ⁶	80,56±16,90	93,06±6,05	72,22±27,22	86,11±13,89	83,33±14,16	84,72±10,67

¹ Ganho de peso médio (g); ² Rendimento de carcaça com cabeça (%); ³ Rendimento de carcaça sem cabeça (%); ⁴ Rendimento de tronco limpo (%); ⁵ Índice hepatossomático; ⁶ Sobrevivência (%). Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Os parâmetros plasmáticos de glicose, proteínas totais, triglicerídeos e colesterol total não variaram ($p>0,05$) com a substituição do milho pela glicerina na dieta de jundiá (Tabela 4), mesmo com a coleta de sangue tendo sido realizada 12 horas após a última alimentação.

Tabela 4. Parâmetros bioquímicos do plasma sanguíneo de juvenis de jundiá alimentados durante 30 dias com dietas contendo diferentes níveis de substituição do milho pela glicerina bruta

Variável	Níveis de substituição do milho pela glicerina bruta (%)					
	0	20	40	60	80	100
GLI ¹	55,12±13,62	66,81±17,77	55,14±7,76	65,75±12,18	68,73±15,15	87,78±26,13
PTT ²	4,16±0,56	4,67±0,82	3,98±0,53	3,93±0,29	3,83±0,49	3,90±0,48
TGC ³	221,65±68,37	209,81±49,26	159,50±31,51	200,58±49,91	238,93±78,82	194,74±66,77
CLT ⁴	123,96±27,33	115,54±13,47	101,68±15,52	97,84±6,76	96,50±20,25	90,92±8,97

¹ Glicose (mg dL^{-1}); ² Proteínas totais (g dL^{-1}); ³ Triglicerídeos (mg dL^{-1}); ⁴ Colesterol total (mg dL^{-1}).

Os valores de umidade, proteína bruta e cinzas da carcaça dos peixes foram semelhantes entre todos os tratamentos ($p>0,05$) (Tabela 5). O tratamento que não continha glicerina bruta foi o que apresentou a maior quantidade de gordura corporal ($p<0,05$), seguida da dieta 20%, e os menores valores de gordura foram encontrados a partir do nível de 40% de substituição (40, 60, 80 e 100%). A substituição do milho pela glicerina bruta resultou em

resposta quadrática ($p < 0,01$) na gordura corporal dos animais e o nível de substituição que expressou a menor percentagem de gordura bruta foi estimado em 76,76% (Figura 1).

Tabela 5. Composição química do corpo inteiro de juvenis de jundiá alimentados durante 30 dias com dietas contendo diferentes níveis de substituição do milho pela glicerina bruta

Variável	Níveis de substituição do milho pela glicerina bruta (%)					
	0	20	40	60	80	100
Umidade (%)	73,59±2,19	74,55±3,01	75,53±2,15	75,01±2,43	75,78±2,28	76,54±1,73
Proteína bruta (%)	17,60±0,57	18,76±1,18	18,04±1,53	17,81±1,29	18,95±1,49	17,85±0,87
Cinzas (%)	3,26±0,39	3,25±0,70	3,27±0,25	3,30±0,74	3,20±0,46	3,15±0,17
Gordura bruta (%) ¹	2,51±1,15a	1,32±0,09ab	0,70±0,19b	1,18±0,61b	0,91±0,29b	0,71±0,18b

¹ Efeito quadrático ($y = 0,000213x^2 - 0,03270x + 1,961$; $r^2 = 0,71$). Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

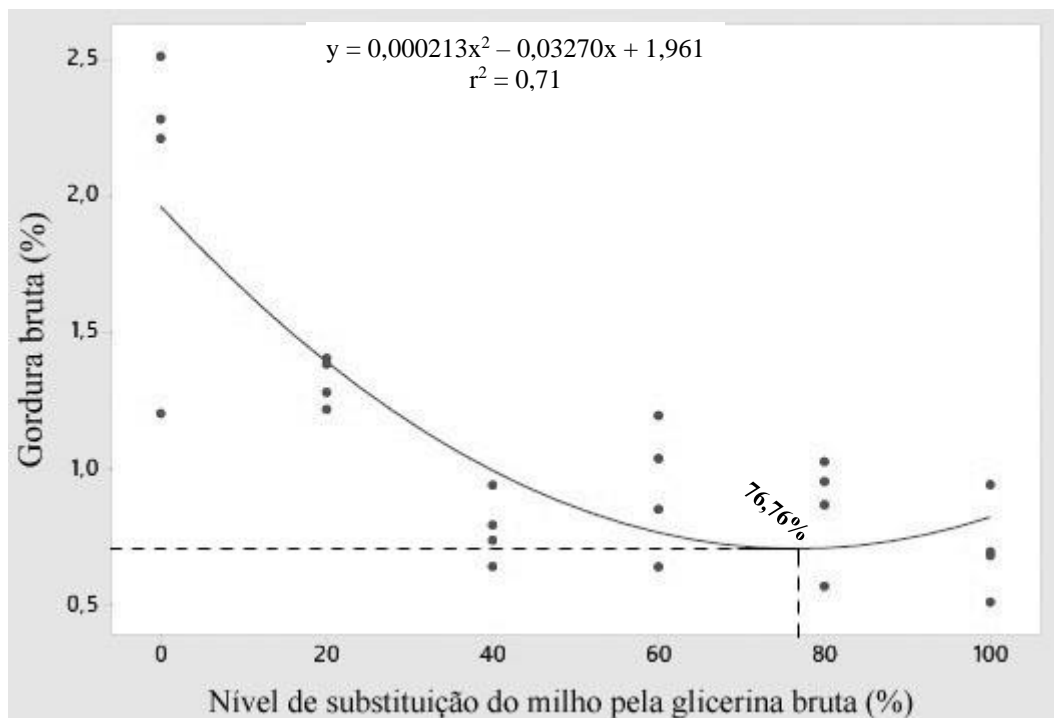


Figura 1. Regressão polinomial da gordura bruta da carcaça de juvenis de *Rhamdia quelen* alimentados com dietas contendo diferentes níveis de substituição do milho pela glicerina bruta durante 30 dias.

DISCUSSÃO

A substituição do milho pela glicerina não afetou o ganho de peso dos animais, mas alterou os rendimentos de carcaça sem cabeça e o de tronco. A parte útil do pescado, ou tronco limpo, é a parte do corpo pronta para o consumo e/ou a industrialização e, por meio desse, ainda se pode obter o filé (Souza et al., 2000). Nos trabalhos com glicerol, esses parâmetros de desempenho raramente são avaliados, mas sua importância está relacionada à

agregação de valor ao produto, com possível utilização do peixe mesmo quando estiver fora do peso ideal de abate.

Adicionalmente, a inclusão de até 11% de glicerol não influenciou o rendimento de carcaça sem cabeça de tilápia do Nilo durante a fase de reversão sexual (Meurer et al., 2015), e a de até 15% não ocasionou prejuízos ao rendimento de filé do bagre do canal (Li et al., 2010).

Os valores de rendimento de carcaça sem cabeça do presente estudo se mostraram semelhantes aos de jundiás com classe de peso entre 200 e 800 g provenientes de viveiros de terra (Carneiro et al., 2004), ao passo que os de rendimento de tronco limpo foram semelhantes aos de jundiás com tamanhos superiores alimentados com diferentes níveis de proteína e energia criados em tanques-rede (Reidel et al., 2010).

Os níveis de inclusão de glicerina não foram suficientes para alterar o peso final dos juvenis de *R. quelen*, assim como visualizado nos resultados descritos para a tilápia do Nilo na fase pós-larval (Meurer et al., 2015), de alevino (Neu et al., 2012b) e juvenil (Neu et al., 2013; Costa et al., 2015). Contudo, a inclusão máxima praticada naqueles trabalhos variou de 10 a 15%, enquanto que a do presente trabalho foi de 19,74% da dieta.

Um problema que pode limitar a inclusão de uma quantidade elevada desse ingrediente em rações extrudadas é que a extrusão das mesmas foi sendo dificultada à medida que a glicerina substituiu o milho presente nas dietas, fato relacionado à diminuição da quantidade de amido disponível, o qual tem papel fundamental no processo de extrusão devido à sua capacidade de gelatinização quando exposto a altas temperaturas. Soma-se a isso a apresentação líquido-viscosa da glicerina, que altera a consistência da mistura e promove o aumento da velocidade da rosca e a queda de pressão do produto na saída da matriz da extrusora.

Os parâmetros bioquímicos do sangue não foram influenciados pelas dietas provavelmente pelo tempo ao qual os peixes foram submetidos ao jejum. Após jejum de 24h, também não foi observado efeito do glicerol sobre as concentrações dessas variáveis em juvenis de tilápia do Nilo (Costa et al., 2015; Neu et al., 2013). De modo inverso, o nível de glicose no sangue do bagre do canal sofreu influência das dietas passadas apenas 3h após a última alimentação (Li et al., 2010).

Durante o jejum, muitas das reações da glicólise no fígado são revertidas para a produção de glicose a partir de compostos não-carboidratos, a fim de manter seu nível no sangue constante, haja vista que é o principal substrato energético para a maioria dos tecidos do corpo (Smith et al., 2007). O glicerol é um dos precursores da glicose, pois seus carbonos

são gliconeogênicos, formando diidroxiacetona fosfato, um intermediário glicolítico (Marzzoco e Torres, 2007). O glicerol é liberado do tecido adiposo quando os níveis de insulina estão baixos e os níveis de glucagon ou de hormônios de estresse, como a adrenalina e o cortisol, estão elevados no sangue (Smith et al., 2007). Isto ocorre após a degradação de triacilglicerídeos, evento que também fornece a energia necessária para a gliconeogênese, a partir da β -oxidação dos ácidos graxos ora disponibilizados (Smith et al., 2007; Tornheim and Ruderman, 2011).

A composição corporal dos juvenis de jundiá foi influenciada pela substituição do milho pelo glicerol apenas para a gordura bruta, com o nível de 76,76% levando a uma menor quantidade de gordura na carcaça. O glicerol livre não poupou o catabolismo proteico para produção de energia como fazem os lipídios em dietas altamente energéticas e sua inclusão não exerceu influência sobre a composição de carcaça da truta arco-íris (Menton et al., 1986). Já em juvenis de tilápia do Nilo, a inclusão do glicerol bruto afetou a composição de lipídios da carcaça (Neu et al., 2013).

Por sua vez, o aumento dos níveis de glicerol em substituição ao milho para alevinos de tilápia do Nilo promoveu um aumento da deposição proteica e da umidade do corpo inteiro e a diminuição da matéria mineral e do extrato etéreo, o qual apresentou valor mínimo em 72% de substituição (Moesch et al., 2016), nível, este, próximo ao estimado pelo presente trabalho (76,76%), indicando que a glicerina da dieta afeta a atividade lipogênica também do jundiá.

Essa substituição pode ter evitado que houvesse excesso de carboidratos na dieta e os peixes passaram a apresentar menor teor de gordura corporal. Quando a energia na dieta excede a exigência imediata do animal, os carboidratos em excesso são preferencialmente utilizados para repor o estoque de glicogênio e, permanecendo em excesso, tendem a serem convertidos em ácidos graxos, que são esterificados para formar o triacilglicerídeo, então armazenado no tecido adiposo (Gurr et al., 2016; Tocher and Glencross, 2015).

A utilização de glicerina bruta não causou efeito sobre o índice hepatossomático e os parâmetros bioquímicos do sangue, os quais fornecem informações importantes sobre a saúde dos animais. Marques (2014) relatou que o glicerol bruto não tem efeito genotóxico sobre os eritrócitos e hepatócitos de *R. quelen*, mesmo sendo incluído em 30% da dieta. Desse modo, as impurezas presentes na glicerina bruta não são suficientes para afetar a saúde dos peixes, podendo ser recomendada sua utilização na alimentação do jundiá de forma segura.

Trabalhos subsequentes devem se aprofundar nas rotas metabólicas tomadas pelo glicerol, analisando os metabólitos e as atividades enzimáticas dos diferentes tecidos corporais envolvidos no metabolismo energético de *R. quelen*.

CONCLUSÃO

O uso da glicerina bruta não altera os parâmetros bioquímicos do sangue de juvenis de jundiá (*R. quelen*) e a substituição de 76,76% do milho da dieta por esse ingrediente alternativo diminui a gordura corporal e mantém o rendimento de carcaça sem cabeça e o rendimento de tronco limpo elevados.

AGRADECIMENTOS

Ao apoio do Laboratório Clínico do Hospital Veterinário da UFPR do Setor Palotina, especialmente ao Me. Pedro Argel Zadinelo Moreira pelas análises de sangue, à Profa. Dra. Leda Maria Saragiotto Colpini pelas análises bromatológicas, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro e pela bolsa concedida.

REFERÊNCIAS

- Association of Official Analytical Chemist (AOAC) (1995) Official methods of analysis of AOAC international, 16th edn. AOAC Inc., Arlington, VA.
- Balen, R. E.; Tetu, P. N.; Bombardelli, R. A.; Pozza, P. C.; Meurer, F. (2014) Digestible energy of crude glycerol for pacu and silver catfish. *Ciência Rural* 44: 1448–1451.
- Carneiro, P. C. F.; Mikos, J. D.; Bendhack, F.; Ignácio, S. A. (2004) Processamento do jundiá *Rhamdia quelen*: rendimento de carcaça. *Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais* 2: 11–17.
- Duarte, J. O.; Cruz, J. C.; Garcia, J. C.; Mattoso, M. J. (2009) Cultivo do Milho. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_5_ed/economia.htm>. Acesso em: 01 fev. 2016.
- Costa, D. V.; Paulino, R. R.; Okamura, D.; Oliveira, M. M.; Vieira e Rosa, P. (2015) Growth and energy metabolism of Nile tilapia juveniles fed glycerol. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 50: 347–354.

- Gonçalves, L. U.; Cerozi, B. S.; Castro Silva, T. S.; Zanon, R. B.; Cyrino, J. E. P. (2015) Crude glycerin as dietary energy source for Nile tilapia. *Aquaculture* 437: 230–234.
- Gurr, M. I.; Harwood, J. L.; Frayn, K. N.; Murphy, D. J.; Michell, R. H. *Lipids: biochemistry, biotechnology and health*. 6th ed. Chichester, West Sussex, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2016. 448p.
- Klinger, A. C. K.; Capitano, J. R.; Toledo, G. S. P.; Silva, L. P.; Santana, P. P.; Chimainski, M.; Rodrigues, M. O.; Galarreta, B. (2015) Inclusão de glicerina bruta em dietas para coelhos em crescimento. *Archivos de Zootecnia* 64: 373–376.
- Li, M. H.; Minchew, C. D.; Oberle, D. F.; Robinson, E. H. (2010) Evaluation of glycerol from biodiesel production as a feed ingredient for Channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Journal of the World Aquaculture Society* 41:130–136.
- Marques, A. E. M. L. (2014) Avaliação da genotoxicidade do glicerol bruto e do óxido de cromo III nos bioindicadores *Rhamdia quelen* e *Piaractus mesopotamicus*. 68 f. Dissertação (Mestrado em Genética) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil.
- Marzzoco, A.; Torres, B. B. *Bioquímica básica*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2007. 386p.
- Menton, D.J.; Slinger, S.J.; Hilton, J.W. (1986) Utilization of free glycerol as a source of dietary energy in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture* 56:215–227.
- Meurer, F.; Franzen, A.; Piovesan, P.; Rossato, K. A.; Santos, L. D. (2012) Apparent energy digestibility of glycerol from biodiesel production for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1758). *Aquaculture Research* 43:1734–1737.
- Meurer, F.; Tovo Neto, A.; Silva, L. C. R.; Cagol, L.; Theisen, M. T.; Santos, L. D. (2015) Crude glycerol in diets for Nile tilapia sex reversal (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1758). *Aquaculture Research* 1–4. doi:10.1111/are.12714.
- Moesch, A.; Meurer, F.; Zadinelo, I. V.; Carneiro, W. F.; Silva, L. C. R.; Santos, L. D. (2016) Growth, body composition and hepatopancreas morphology of Nile tilapia fingerlings fed crude glycerol as a replacement for maize in diets. *Animal Feed Science and Technology* 219: 122–131.
- Neu, D. H.; Furuya, W. M.; Boscolo, W. R.; Bueno, G. W.; Potrich, F. R.; Feiden, A. (2012a) Energia digestível de diferentes fontes de glicerol para a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Ciências Agrárias* 7: 174–179.
- Neu, D. H.; Furuya, W. M.; Yamashiro, D.; Bittencourt, F.; Moro, E. B.; Fernandes, D. R. A.; Boscolo, W. R.; Feiden, A. (2012b) Glicerol na dieta de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Agrarian* 5:288–294.

- Neu, D. H.; Furuya, W. M.; Boscolo, W. R.; Potrich, F. R.; Lui, T. A.; Feiden, A. (2013) Glycerol inclusion in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles. *Aquaculture Nutrition* 19: 211–217.
- Olaya-Nieto, C. W.; Pacheco-Orozco, L.; Ochoa-Arteaga, J. (2012) Ecología trófica del Liso (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard, 1824) en el río Sinú, Colombia. *Revista MVZ Córdoba* 17: 3217–3223.
- Oliveira Filho, P. R. C.; Fracalossi, D. M. (2006) Coeficientes de digestibilidade aparente de ingredientes para juvenis de jundiá. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35: 1581–1587 (supl.).
- Ooi, T. L.; Yong, K. C.; Hazimah, A. H.; Dzulkefly, K.; Wan-Yunus, W. M. Z. (2004) Glycerol residue - a rich source of glycerol and medium chain fatty acids. *Journal of Oleo Science* 53: 29–33.
- Pereira, C. R.; Barcellos, L. J. G.; Kreutz, L. C.; Quevedo, R. M.; Ritter, F.; Silva, L. B. (2006) Embryonic and larval development of jundiá (*Rhamdia quelen*, Quoy & Gaimard, 1824, Pisces, Teleostei), a South American catfish. *Brazilian Journal of Biology* 66: 1057–1063.
- Reidel, A.; Romagosa, E.; Feiden, A.; Boscolo, W. R.; Coldebella, A.; Signor, A. A. (2010) Rendimento corporal e composição química de jundiás alimentados com diferentes níveis de proteína e energia na dieta, criados em tanques-rede. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39: 233–240.
- Salhi, M.; Bessonart, M. (2012) Growth, survival and fatty acid composition of *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard, 1824) larva fed on artificial diet alone or in combination with *Artemia nauplii*. *Aquaculture Research* 44: 41–49.
- Silfvergrip, A. M. C. (1996) A systematic revision of the Neotropical catfish genus *Rhamdia*. PhD Thesis. Stockholm University, Stockholm, Sweden, 156 p.
- Smith, C.; Marks, A. D.; Lieberman, M. *Bioquímica médica básica de Marks: uma abordagem clínica*. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2007. 992p.
- Souza, M. L. R.; Marengoni, N. G.; Pinto, A. A.; Caçador, W. C. (2000) Rendimento do processamento da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*): tipos de corte da cabeça em duas categorias de peso. *Acta Scientiarum* 22: 701–706.
- Tocher, D. R.; Glencross, B. D. Lipids and fatty acids. In: Lee, C-S; Lim, C.; Gatlin III, D. M.; Webster, C. D. (Eds.) *Dietary Nutrients, Additives, and Fish Health*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc., 2015. p.50-51.

Tornheim, K.; Ruderman, N. B. Intermediary metabolism of carbohydrate, protein, and fat.
In: Ahima, R. S. (Ed.). Metabolic basis of obesity. New York, NY: Springer-Verlag, 2011.
p.32-34.

Endereço do autor: R. E. Balen, Programa de Pós-graduação em Zoologia, Centro
Politécnico, Universidade Federal do Paraná, Caixa Postal 19020, 81531-980, Curitiba,
Paraná, Brazil.

E-mail: rebalen@yahoo.com.br

5 CAPÍTULO 3

DIGESTIBILIDADE APARENTE E INCLUSÃO DA GLICERINA BRUTA EM DIETAS PARA JUVENIS DE CURIMBATÁ *Prochilodus lineatus* (VALENCIENNES, 1837)[#]

[#] Este manuscrito será submetido à revista Aquaculture Research

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar a digestibilidade aparente e o efeito da inclusão da glicerina bruta na dieta de juvenis de curimatá (*Prochilodus lineatus*). No ensaio de digestibilidade, foram coletadas fezes de 35 peixes (peso inicial médio de $66,47 \pm 20,06$ g) alimentados com uma dieta-teste constituída por 71,1% de uma dieta referência e 28,9% de glicerina bruta, tendo o óxido de cromo como marcador inerte. No segundo experimento, foram utilizados 750 juvenis (peso inicial médio de $18,71 \pm 2,70$ g), em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com seis tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos foram constituídos por seis níveis de inclusão da glicerina bruta (0, 4, 8, 12, 16 e 20%) em rações isoproteicas e isoenergéticas. O arrazoamento foi realizado *ad libitum*, quatro vezes ao dia. Ao final de 64 dias, os peixes foram pesados e medidos e 3 indivíduos de cada repetição tiveram o sangue coletado para a obtenção dos valores dos parâmetros de crescimento, desempenho e bioquímicos do plasma sanguíneo. Os dados foram submetidos à análise de variância e, quando constatadas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos, ao teste de Tukey e à análise de regressão. Para curimatá, a glicerina bruta apresentou coeficiente de digestibilidade aparente de 0,76 para energia e energia digestível de $2.849,15 \text{ kcal kg}^{-1}$ da dieta. No experimento de inclusão, foi observado efeito dos tratamentos ($p < 0,05$) sobre os parâmetros de crescimento peso final médio, comprimento total, comprimento padrão, altura e largura, e sobre os parâmetros de desempenho ganho de peso, conversão alimentar aparente e taxa de crescimento específico. Ocorreu efeito linear ($p < 0,01$) das dietas sobre o peso final, comprimento total, ganho de peso e conversão alimentar. Em relação aos parâmetros bioquímicos do sangue, os níveis dietéticos de glicerina afetaram ($p < 0,05$) apenas a concentração plasmática de glicose e de triglicerídeos. Concluiu-se que a glicerina bruta pode ser utilizada como fonte de energia dietética para curimatá, e sua inclusão em 4% da dieta promove maior crescimento e desempenho produtivo de juvenis dessa espécie.

Palavras-chave: Characiformes, energia não-proteica, glicerol, peixe nativo.

INTRODUÇÃO

O rápido declínio nas reservas mundiais de petróleo tem promovido o uso de óleos vegetais como combustíveis em muitos países da Europa, América e Ásia (Srivastava and Prasad, 2000). Neste contexto, o aumento na produção de biodiesel resulta em uma quantidade excessiva de glicerol produzido, visto que este é o principal subproduto gerado durante o processo de transesterificação do óleo, perfazendo de 10 a 12% da massa total obtida (Dasari et al., 2005; Stelmachowski, 2011). Considerando a queda do preço do glicerol nos últimos anos devido sua superprodução, é imprescindível encontrar um uso alternativo para o mesmo (Fan et al., 2010), reduzindo problemas econômicos e ambientais relacionados ao seu descarte.

A utilização de alimentos não convencionais ou mesmo resíduos e subprodutos agroindustriais para substituir os convencionais nas dietas dos animais vem sendo bastante estudada e busca satisfazer as necessidades nutricionais das espécies e contribuir com a economia do sistema produtivo (Ashade and Osineye, 2013). Recentemente, a possibilidade de utilizar o glicerol derivado do biodiesel na alimentação animal tem sido investigada devido ao aumento no preço do milho e o excesso de glicerina bruta (Yang et al., 2012), uma vez que os valores energéticos do milho e do glicerol são similares (Zijlstra et al., 2009).

Estudos envolvendo a utilização do glicerol derivado da indústria de biodiesel na dieta de peixes se iniciaram por meio de Li et al. (2010) com o bagre do canal, não levando em conta seu valor digestível. Meurer et al. (2012) relataram o potencial uso do glicerol bruto como fonte energética para tilápia do Nilo. Para esta espécie, o nível de inclusão recomendado para a fase de reversão sexual é de até 110 g kg⁻¹ de glicerol na dieta, sem afetar o desempenho ou a mortalidade dos peixes (Meurer et al., 2015), enquanto que sua utilização em alevinos foi desencorajada por Neu et al. (2012a), devido à alta mortalidade ocorrida quando criados em baixas temperaturas. Por outro lado, Neu et al. (2013) recomendaram a inclusão de até 100 g kg⁻¹ de glicerol na dieta de juvenis.

O curimatá *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1837) é um peixe iliófago-detritívoro distribuído nas bacias dos rios Paraná, Paraguai e Paraíba do Sul, muito importante para a pesca e aquicultura (Froese and Pauly, 2011). Em um dos raros estudos sobre exigência nutricional do curimatá, a espécie utilizada foi *Prochilodus affinis*, e apontou que a exigência

de proteína bruta (PB) e energia digestível (ED) de alevinos é de 260,5 g kg⁻¹ e 2700 kcal kg⁻¹ da dieta, respectivamente, correspondente a uma relação de 10,36 kcal de ED g⁻¹ de PB (Bomfim et al., 2005). Deste modo, as necessidades nutricionais de *P. lineatus* ainda devem ser estudadas.

Em vista dos resultados inconclusivos obtidos para as espécies acima citadas e a ausência de informações sobre sua utilização na dieta de peixes nativos do Brasil, este trabalho teve por objetivo avaliar a digestibilidade da energia e a influência da glicerina bruta sobre o crescimento e o desempenho produtivo de juvenis de curimatá (*P. lineatus*), levando-se em conta os parâmetros bioquímicos do sangue e a sobrevivência dos animais.

MATERIAL E MÉTODOS

Os dois experimentos foram conduzidos no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos da Universidade Federal do Paraná, em Palotina – PR.

Ensaio de digestibilidade

O coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) para energia foi mensurado indiretamente utilizando 0,1% de óxido de cromo III (Cr₂O₃) como marcador inerte. A glicerina bruta foi fornecida pela BSBIOS Indústria e Comércio de Biodiesel Sul Brasil S/A, de Marialva, Paraná, Brasil. As rações referência e teste utilizadas foram formuladas a partir de ingredientes de origem vegetal (Tabela 1).

Tabela 1. Formulação das dietas utilizadas no ensaio de digestibilidade de *P. lineatus*

Ingredientes	Referência (%)	Teste (%)
Glicerina bruta	0,00	28,90
Farelo de soja	66,16	46,31
Milho moído	29,07	20,35
Óleo de soja	1,11	0,78
Fosfato bicálcico	1,84	1,84
Calcário calcítico	0,22	0,22
Suplemento vitamínico-mineral ¹	1,00	1,00
Sal comum (NaCl)	0,50	0,50
Óxido de cromo (Cr ₂ O ₃)	0,10	0,10
Total	100,00	100,00

¹ Níveis de garantia por kg do produto: Vit, A, 1,200,000 UI, Vit, D₃, 200,000 UI, Vit, E, 12,000 mg, Vit, K₃, 2,400 mg, Vit, B₁, 4,800 mg, Vit, B₂, 4,800 mg, Vit, B₆, 4,000 mg, Vit, B₁₂, 4,800 mg, Ácido fólico, 1,200 mg, Pantotenato de cálcio, 12,000 mg, Vit, C, 48,000 mg, Biotina, 48 mg, Colina, 65,000 mg, Niacina, 24,000 mg, Fe, 10,000 mg, Cu, 6,000 mg, Mn, 4,000 mg, Zn, 6,000 mg, I, 20 mg, Co, 2 mg, Se, 20 mg.

Os juvenis de curimatá ($n = 35$; peso inicial médio de $66,47 \pm 20,06$ g; comprimento total médio de $17,83 \pm 1,71$ cm) foram estocados em uma gaiola e mantidos durante o dia em um tanque de polietileno de 1.000 L, utilizado para alimentação, e, à noite, eram repassados para um tanque cônico-cilíndrico de 200 L, para coleta das fezes (Figura 3A). Os procedimentos de fabricação da ração, e coleta, armazenamento e processamento das fezes foram realizados conforme Balen et al. (2014).

O conteúdo de energia bruta foi mensurado por combustão em uma bomba calorimétrica (modelo Parr 6200) e o conteúdo de óxido de cromo da dieta e das fezes foi determinado usando um processo envolvendo digestão por ácido nitro-perclórico seguida de espectrometria de absorção atômica (Kimura and Miller 1957). O valor do CDA da energia da glicerina para *P. lineatus* foi calculado de acordo com NRC (2011).

Ensaio de inclusão da glicerina

Foram utilizados 750 juvenis de curimatá, com peso inicial médio de $18,71 \text{ g} \pm 2,70$ e comprimento total de $12,25 \text{ cm} \pm 0,51$, distribuídos em 30 caixas de polietileno de 1.000 L em um delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos e cinco repetições, sendo considerada uma unidade experimental cada caixa com 25 peixes.

Os tratamentos foram constituídos por dietas práticas divididas em seis níveis de inclusão (0, 4, 8, 12, 16 e 20%) da glicerina bruta derivado do biodiesel, sendo isoprotéicas, isoenergéticas, isocalcíticas e isofosfóricas (Tabela 2). Para a fabricação das rações, os ingredientes foram triturados utilizando peneira de 0,5 mm, misturados e então processados (Figura 4A). Devido ao hábito alimentar da espécie, as rações foram submetidas ao processo de peletização, que foi realizado em uma peletizadora experimental pelo umedecimento prévio da mistura com água à temperatura de $52 \text{ }^\circ\text{C}$. Após a peletização, as mesmas foram secas em estufa de ventilação forçada a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24h. As rações foram fornecidas quatro vezes ao dia (7h30, 11h00, 14h30 e 18h00) durante 64 dias.

As caixas plásticas integraram um sistema de recirculação de água, com renovação diária de aproximadamente 7,5 vezes o seu volume. A temperatura da água foi mantida pela abertura e fechamento das laterais da estufa agrícola dentro da qual as caixas estavam instaladas. O sistema de aeração foi constituído por um soprador de ar de 1 cv, conectada a tubos de PVC, que distribuíam o oxigênio para cada unidade experimental por meio de mangueiras de silicone com pedras porosas nas terminações. Realizou-se um sifonamento de 100 L em cada unidade experimental antes da última alimentação diária para remoção das possíveis sobras de rações, fezes e matéria orgânica.

Tabela 2. Composição química das rações experimentais contendo diferentes níveis de glicerina bruta

Alimentos	Nível de inclusão (%)					
	0	4	8	12	16	20
Farelo de soja	49,278	50,110	50,942	51,774	52,605	53,437
Milho moído	46,276	41,350	36,425	31,499	26,574	21,648
Glicerina bruta	0,000	4,000	8,000	12,000	16,000	20,000
Óleo de soja	0,016	0,100	0,183	0,267	0,351	0,434
Fosfato bicálcico	2,152	2,190	2,227	2,265	2,302	2,339
Premix vitamínico-mineral ¹	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Sal comum	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500
BHT	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
Calcário	0,767	0,740	0,713	0,686	0,658	0,631
Total	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000
Nutrientes						
Ácido linoleico (%)	1,247	1,204	1,162	1,119	1,076	1,033
Amido (%)	35,482	32,526	29,570	26,614	23,657	20,701
Cálcio (%)	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Cinzas (%)	7,223	7,390	7,557	7,723	7,890	8,057
Energia bruta (kcal kg ⁻¹)	3853,000	3853,000	3853,000	3853,000	3853,000	3853,000
Fibra bruta (%)	3,820	3,773	3,726	3,679	3,632	3,586
Fósforo total (%)	0,800	0,800	0,800	0,800	0,800	0,800
Gordura (%)	2,672	2,556	2,440	2,324	2,208	2,092
Lisina total (%)	1,486	1,496	1,507	1,518	1,529	1,540
Matéria seca (%)	89,585	89,670	89,755	89,840	89,925	90,010
Metionina+cistina total (%)	0,797	0,789	0,782	0,774	0,766	0,759
Proteína bruta (%)	26,000	26,000	26,000	26,000	26,000	26,000

¹ Níveis de garantia por quilograma de produto: Ácido fólico: 200 mg, Ácido pantotênico: 4.000 mg; Biotina: 40 mg; Cobre: 2.000 mg; Ferro: 12.500 mg; Iodo: 200 mg; Manganês: 7.500 mg; Niacina: 5.000 mg; Selênio: 70 mg; Vitamina A: 1.000.000 UI; Vitamina B1: 1.900 mg; Vitamina B12: 3.500 mg; Vitamina B2: 2.000 mg; Vitamina B6: 2.400 mg; Ácido ascórbico: 50.000 mg; Vitamina D3: 500.000 UI; Vitamina E: 20.000 UI; Vitamina K3: 500 mg; Zinco: 25.000 mg.

As variáveis físicas e químicas da água como pH ($7,85 \pm 0,26$), amônia ($0,19 \pm 0,06$ mg L⁻¹), nitrito ($0,02 \pm 0,01$ mg de N-NH₄ L⁻¹), alcalinidade total ($125,40 \pm 21,89$ mg de CaCO₃ L⁻¹) e dureza ($35,28 \pm 10,54$ mg de CaCO₃ L⁻¹) foram monitoradas uma vez por semana, enquanto que temperatura mínima ($26,74 \pm 1,01$ °C) e máxima ($29,51 \pm 1,37$ °C), além do oxigênio dissolvido ($5,45 \pm 0,06$ mg L⁻¹), foram aferidos diariamente. Os valores das variáveis químicas estão dentro da faixa recomendada para os cultivos de água doce, segundo Sá (2012), e a temperatura está dentro do indicado para o conforto térmico de espécies tropicais, de acordo com Baldisserotto (2009).

Ao final do período experimental e jejum de 24 h, os peixes foram anestesiados com benzocaína 10% (Merck, Darmstadt, Germany) e eutanaziados para mensuração das medidas

individuais de peso final médio (PF), comprimento total (CT), comprimento padrão (CP), comprimento de cabeça (CC), altura (AL) e largura (LG), e, de 3 indivíduos por unidade experimental, do peso eviscerado com e sem cabeça, peso do tronco limpo e peso do fígado. Posteriormente, calcularam-se os valores de ganho de peso (GPM), taxa de crescimento específico (TCE), conversão alimentar aparente (CAA), taxa de sobrevivência (SOB), rendimento de carcaça com (RCC) e sem cabeça (RCS), rendimento de tronco limpo (RTL) e índice hepatossomático (IHS).

A fim de se determinar a concentração plasmática de glicose, proteínas totais, colesterol total e triglicerídeos, foram coletadas amostras de sangue de 3 indivíduos de cada unidade experimental. As amostras de sangue, cada uma com cerca de 1,5 mL, foram obtidas por meio de punção caudal usando seringa heparinizada e, então, centrifugadas a 3500 rpm por 5 min para separação do plasma. As análises bioquímicas foram realizadas utilizando kits Gold Analisa Diagnóstica[®], de acordo com as recomendações do fabricante, com a leitura sendo realizada no Analisador Bioquímico Quick Lab II[®].

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software SAEG 9.1 - Sistema de Análises Estatística (UFV, 2007). Os dados de crescimento, desempenho produtivo, sobrevivência e parâmetros bioquímicos do sangue foram submetidos à análise de variância (one-way ANOVA) e foram expressos como média \pm desvio padrão. Quando constatadas diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$), foram realizados o teste de Tukey e a análise de regressão.

RESULTADOS

A glicerina bruta apresentou 3.749,76 kcal kg⁻¹ de energia bruta, 93,24% de matéria seca e 6,06% de matéria mineral. Para o curimatá, o CDA para energia foi de 0,76, sendo a energia digestível da glicerina bruta de 2.849,15 kcal kg⁻¹ da dieta.

Os resultados dos parâmetros de crescimento de juvenis de *P. lineatus* estão apresentados na Tabela 3. Observou-se influência dos níveis de glicerina na dieta ($p < 0,05$) sobre o peso final médio, comprimento total, comprimento padrão, largura e altura. Para o peso final, comprimento total e comprimento padrão, a dieta 4% de glicerina bruta apresentou os maiores valores, seguida da 0 e 12%, com os menores valores para 20% de inclusão. Em relação à altura e largura, as maiores médias encontradas foram para a dieta 4%, seguida de 0 e 12%, e as menores médias para 8, 16 e 20%. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) apenas sobre o comprimento de cabeça, cujas médias pouco variaram.

Foi observado efeito linear negativo (Figura 1) das dietas sobre o peso final médio ($p=0,0013$) e o comprimento total ($p=0,0006$). À medida em que os níveis de inclusão da glicerina bruta aumentaram, foi observada uma tendência de diminuição nos valores de peso final médio ($y = -0,1334x + 29,665$; $r^2 = 0,7507$) e comprimento total ($y = -0,0229x + 14,171$; $r^2 = 0,7724$).

Tabela 3. Parâmetros de crescimento de juvenis de curimatá alimentados com dietas contendo diferentes níveis de glicerina bruta durante 64 dias

Variável	Níveis de inclusão da glicerina bruta (%)					
	0	4	8	12	16	20
PF ¹	28,97±0,37ab	29,84±0,69a	28,41±1,13bc	28,77±0,50ab	27,34±0,53cd	26,66±1,03d
CT ²	14,10±0,13ab	14,16±0,10a	13,90±0,14bc	14,04±0,11ab	13,78±0,10cd	13,66±0,11d
CP ³	11,13±0,05ab	11,24±0,08a	10,97±0,05bc	11,13±0,05ab	10,88±0,10cd	10,78±0,02d
CC ⁴	3,09±0,06	3,11±0,02	3,05±0,08	3,08±0,04	3,05±0,04	3,00±0,03
AL ⁵	3,13±0,04ab	3,20±0,07a	3,09±0,05b	3,12±0,03ab	3,07±0,06b	3,02±0,06b
LG ⁶	1,42±0,05ab	1,48±0,02a	1,40±0,03b	1,42±0,04ab	1,40±0,05b	1,37±0,02b

¹ Peso final médio (g) ($p=0,0145$); ² Comprimento total (cm) ($p=0,0044$); ³ Comprimento padrão (cm) ($p=0,0012$); ⁴ Comprimento de cabeça (cm) ($p=0,0581$); ⁵ Altura (cm) ($p=0,0408$); ⁶ Largura (cm) ($p=0,0452$). Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

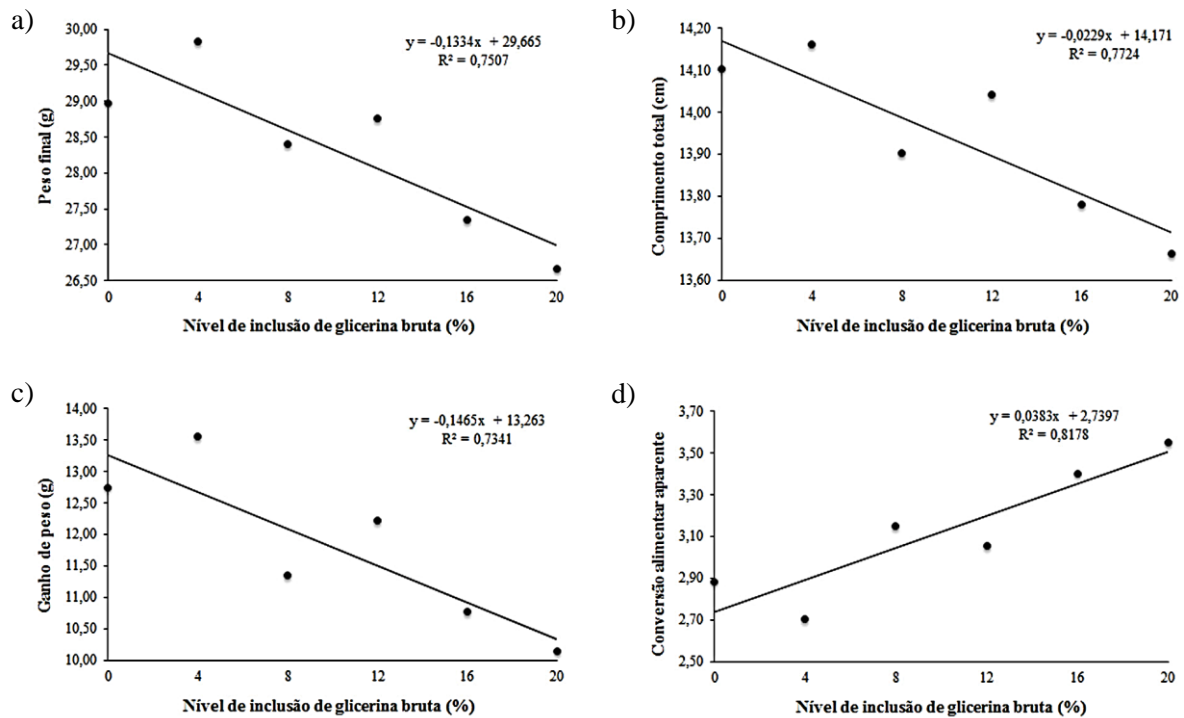


Figura 1. Efeito linear da inclusão de glicerina bruta na alimentação de juvenis de curimatá sobre o peso final (a), comprimento total (b), ganho de peso (c) e conversão alimentar aparente (d).

Dentre os parâmetros de desempenho (Tabela 4), a conversão alimentar aparente, a taxa de crescimento específica e o ganho de peso foram influenciados pelas dietas ($p<0,05$), enquanto que o índice hepatossomático, o rendimento de carcaça com cabeça, rendimento de carcaça sem cabeça e o rendimento de tronco limpo não foram afetados pelos tratamentos ($p>0,05$). As médias de conversão alimentar foram menores para as dietas sem glicerina e com inclusão de 4%, seguidas pelas dietas 8 e 12%, e as piores conversões foram observadas para os tratamentos com 16 e 20% de glicerina. Para a taxa de crescimento específica e o ganho de peso médio, a dieta 4% apresentou os maiores valores, seguida do tratamento sem adição de glicerina, e os menores valores com a dieta inclusão de 20%. Não ocorreu mortalidade durante o experimento.

Houve efeito linear dos tratamentos sobre o ganho de peso ($p=0,0019$) e a conversão alimentar aparente ($p=0,0053$). À medida em que os níveis de inclusão da glicerina bruta aumentaram, foi observada uma tendência de diminuição nos valores de ganho de peso ($y = -0,1465x + 13,263$; $r^2 = 0,7341$) (Figura 1c) e de aumento nos de conversão alimentar ($y = 0,0383x + 2,7397$; $r^2 = 0,8178$) (Figura 1d).

Tabela 4. Desempenho produtivo de juvenis de curimatá alimentados com dietas contendo diferentes níveis de glicerina bruta durante 64 dias

Variável	Níveis de inclusão da glicerina bruta (%)					
	0	4	8	12	16	20
CAA ¹	2,88±0,16b	2,70±0,07b	3,15±0,13ab	3,06±0,11ab	3,40±0,28a	3,55±0,29a
TCE ²	0,89±0,05ab	0,94±0,02a	0,84±0,07abc	0,86±0,04abc	0,78±0,07bc	0,75±0,05c
GPM ³	12,74±0,75ab	13,56±0,35a	11,35±0,47bcd	12,22±0,41abc	10,78±0,86cd	10,13±0,86d
RCC ⁴	85,43±2,18	87,61±0,94	87,63±0,81	87,08±1,34	86,84±0,83	87,48±1,02
RCS ⁵	68,44±1,75	68,45±1,14	65,88±2,61	65,85±2,32	65,61±1,77	67,98±1,41
RTL ⁶	49,00±0,85	51,26±0,55	49,85±1,71	49,84±0,88	49,03±0,72	49,72±1,35
IHS ⁷	0,41±0,11	0,44±0,09	0,43±0,03	0,47±0,13	0,42±0,09	0,43±0,09
SOB ⁸	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00

¹ Conversão alimentar aparente ($p=0,0493$); ² Taxa de crescimento específico (% dia⁻¹) ($p=0,0499$); ³ Ganho de peso (g) ($p=0,0139$); ⁴ Rendimento de carcaça com cabeça (%) ($p=0,2597$); ⁵ Rendimento de carcaça sem cabeça (%) ($p=0,5631$); ⁶ Rendimento de tronco limpo (%) ($p=0,2150$); ⁷ Índice hepatossomático ($p=0,6238$); ⁸ Sobrevivência (%). Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Ao contrário do observado para os parâmetros plasmáticos de proteínas totais e colesterol total, onde não foi constatada diferença estatística significativa ($p>0,05$), as taxas de glicose e de triglicerídeos foram influenciadas ($p<0,05$) pelos níveis de glicerina na dieta (Tabela 5). O nível de glicerina bruta que proporcionou a menor concentração de glicose plasmática foi o de 4%, seguida pelos níveis de 8, 12, 16 e 20%, e com a maior concentração

decorrente do nível sem adição de glicerina (0%). Para os triglicerídeos plasmáticos, a dieta com inclusão de 16% foi a que proporcionou os menores valores, seguida das dietas 0, 4, 8 e 20%, que não diferiram entre si, e o maior valor sendo encontrado para a dieta 12% de inclusão.

Tabela 5. Parâmetros bioquímicos do plasma sanguíneo de juvenis de curimatá alimentados durante 64 dias com dietas contendo diferentes níveis de glicerina bruta

Variável	Níveis de inclusão do glicerina bruta (%)					
	0	4	8	12	16	20
PTT ¹	2,85±0,08	2,72±0,05	2,54±0,18	2,74±0,13	2,84±0,26	2,91±0,36
GLI ²	56,00±6,00a	39,93±7,10b	43,55±6,50ab	55,21±4,79ab	46,92±6,10ab	47,23±13,86ab
CLT ³	147,65±16,33	142,32±8,02	131,12±12,11	139,08±15,12	141,28±12,45	128,83±8,43
TGC ⁴	157,08±4,63ab	191,40±9,92ab	180,50±24,43ab	209,18±36,22a	140,06±9,08b	172,67±30,85ab

¹ Proteínas totais (g dL⁻¹) ($p=0,1036$); ² Glicose (mg dL⁻¹) ($p=0,0435$); ³ Colesterol total (mg dL⁻¹) ($p=0,0510$); ⁴ Triglicerídeos (mg dL⁻¹) ($p=0,0085$). Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

DISCUSSÃO

O coeficiente de digestibilidade aparente para a energia da glicerina bruta em *P. lineatus* foi menor que os descritos para a tilápia do Nilo por Meurer et al. (2012) (CDA de 0,89) e Neu et al. (2012b) (0,81 para o glicerol semi-purificado misto), e para o curimatá em relação à fração proteica de dietas contendo 25% e 28% PB (0,86 e 0,78, respectivamente) (Sousa, 1983). No entanto, foi maior que o observado para o glicerol bruto óleo vegetal (0,58) e para o glicerol semi-purificado vegetal (0,47) na espécie *Oreochromis niloticus* (Neu et al., 2012b).

Ainda que o hábito alimentar difira entre essas espécies, a variação nos resultados de digestibilidade também pode estar relacionada aos diferentes graus de pureza apresentados pelo ingrediente testado, visto que, conforme Beserra et al. (2016), as características físicas, químicas e nutricionais da glicerina bruta dependem dos tipos de ácido graxo e de catálise empregados na produção do biodiesel.

As fontes proteicas e energéticas utilizadas no presente estudo se restringiram ao farelo de soja, milho moído, óleo de soja e glicerina bruta. Os valores de proteína bruta e energia utilizados nas dietas do curimatá *P. lineatus* foram baseados na exigência de *P. affinis* (Bomfim et al., 2005) e, mesmo com um menor período de cultivo e sem o fornecimento de aminoácidos sintéticos, *P. lineatus* apresentou maiores ganho de peso e taxa

de crescimento específico, além de conversão alimentar semelhante, que alevinos dessa outra espécie.

A adição de até 12% de glicerina bruta na dieta promoveu melhor conversão alimentar que as relatadas para indivíduos de até 8 g, que foi de 4,51 sem o uso de ingredientes de origem animal e que variou de 3,34 a 3,61 quando utilizada fonte proteica de origem animal (Fabregat et al., 2011), e para juvenis em torno de 20g, que variou de 3,54 a 3,78 com fontes proteicas a base de farelo de soja, farelo de soja + farinha de peixe e farelo de soja + canola, e de 4,56 com farelo de soja + levedura desidratada (Galdioli et al., 2000). Adicionalmente, os valores de peso final, comprimento total, comprimento padrão e altura foram semelhantes aos de *P. lineatus* criados em tanques de terra e alimentados com rações comerciais durante 150 dias (Bernardes e Públio, 2012).

Os valores calculados para os aminoácidos lisina e metionina+cistina foram superiores aos da exigência estimada para *P. lineatus* (Bicudo and Cyrino, 2009). Todos esses resultados podem demonstrar que a utilização da glicerina como fonte energética permite um melhor aproveitamento dos nutrientes absorvidos e que os aminoácidos disponíveis na dieta sejam direcionados para a síntese proteica nos tecidos, proporcionando um maior crescimento dos peixes. No entanto, deve-se considerar que as dietas fornecidas não se encontravam balanceadas, visto que as mesmas foram formuladas sem o conhecimento dos dados de digestibilidade dos alimentos para essa espécie.

No curimbatá, a inclusão da glicerina não acarretou no aumento do peso relativo do fígado, sugerindo que não ocorreu sobrecarga desse órgão decorrente do processo de metabolização dos nutrientes absorvidos, com a deposição de lipídeos ou de glicogênio, ou mesmo, da toxicidade de algum componente da dieta. Dietas contendo até 10% de glicerol bruto não provocaram aumento no índice hepatossomático de juvenis de tilápia do Nilo (Neu et al., 2013). No entanto, níveis de glicerol superiores a esse causaram aumento do IHS em bagre do canal nessa mesma fase de desenvolvimento (Li et al., 2010).

O nível de inclusão de glicerina bruta na dieta que promoveu os melhores resultados para o iliófago-detritívoro curimbatá foi menor que o recomendado para peixes onívoros, como o bagre do canal (Li et al., 2010) e a tilápia do Nilo (Neu et al., 2013; Gonçalves et al., 2015; Meurer et al., 2015).

De maneira alternativa a essas espécies onívoras, o curimbatá possui estômago com parede muscular extremamente desenvolvida, que atua como uma moela, e um longo intestino intensamente enovelado (Moraes et al., 1997), especializações requeridas para melhorar o aproveitamento do recuso alimentar utilizado, já que sua dieta possui baixo valor nutritivo e é

obtida após a ingestão de grande quantidade de lodo e detritos associados à matéria orgânica, invertebrados e microrganismos (Luz et al., 2001). Assim, mesmo consumido alimentos com baixos valores de proteína e de energia, apresenta elevado coeficiente de digestibilidade aparente para os mesmos (Faria e Benedito, 2011).

Os valores de glicose e proteínas totais plasmáticas encontrados estão de acordo com os descritos como de referência para *P. lineatus* de cultivo intensivo (Tavares-Dias, 2015). As dietas testadas no presente estudo foram formuladas promovendo a substituição do milho pela glicerina bruta e, à medida que a glicerina foi adicionada, ocorreu a diminuição da quantidade de amido disponível nas rações.

A inclusão de glicerina bruta nas dietas influenciou a glicemia e a concentração plasmática de triglicerídeos de *P. lineatus*, em oposição ao relatado para juvenis de tilápia do Nilo (Neu et al., 2013; Costa et al., 2015). Para o bagre do canal, a glicose sanguínea foi significativamente maior em peixes alimentados com 5% de glicerol que os peixes alimentados com as outras dietas (Li et al., 2010). Já na dieta da truta arco-íris, uma espécie carnívora, o glicerol na forma purificada não foi considerado uma boa fonte energética, pois não teve efeito significativo sobre os parâmetros de desempenho e os peixes passaram a apresentar hiperglicemia (Menton et al., 1986).

Como a menor concentração de glicose sanguínea foi observada para o nível de 4% e não ocorreu diferença significativa na concentração de triglicerídeos entre os peixes alimentados com o glicerol e o grupo controle, é possível que a glicerina bruta não tenha sido convertida em glicose nem em triacilglicerídeos, mas direcionado para o ciclo de Krebs, constituindo-se, efetivamente, em uma fonte de energia dietética para estes animais.

A ausência de mortalidade verificada no presente trabalho contrasta com o retratado para a tilápia do Nilo, em que a sobrevivência dos alevinos alimentados com o glicerol foi inferior à do grupo controle, quando criados em baixa temperatura (Neu et al., 2012a). Em um curto período de tempo, não se pode detectar interferência das impurezas que podem estar presentes na composição da glicerina bruta, como o metanol, sais inorgânicos (principalmente fósforo, cálcio, zinco, magnésio, sódio e potássio) e alguns metais pesados (Pyle et al., 2008; Jun et al., 2010; Pagliaro and Rossi, 2010) na saúde dos peixes.

O processamento da ração deve eliminar o metanol presente na mistura (Li et al., 2010), além de que a pressão exercida durante a peletização atua na diminuição do ponto de ebulição deste composto, que é de 64,7 °C, conforme Pereira e Andrade (1998). Em adição, Oliveira et al. (2013) não detectaram níveis de metais pesados como cromo, cádmio e chumbo

em nenhuma das amostras provenientes de 16 usinas do Brasil, as quais são responsáveis por 85,1% do biodiesel produzido no país.

Por sua vez, peixes de água doce tendem a ganhar água e perder íons para o meio (Bone and Moore, 2008), e a maioria dos sais podem ser eliminados diretamente na água pelas brânquias, dado que as mesmas desempenham um papel importante na excreção de cálcio (Hickman Jr., 1968), zinco (Hardy et al., 1987) e sódio e potássio (Evans et al., 2005), ao passo que os rins são mais eficientes para essa função no caso do magnésio (Bijvelds et al., 1998) e do fósforo (Kaune and Hentschel, 1987; Prasad and Bhadauria, 2013).

Estudos mais aprofundados são necessários para verificar a influência da glicerina sobre o metabolismo energético dessa espécie, podendo ser realizadas análises da composição bromatológica do corpo inteiro, tronco limpo e fígado, da quantificação da gordura visceral e da concentração de glicose, triglicérides e proteínas no músculo e no fígado, além da atividade das enzimas envolvidas no metabolismo do glicerol, como a málica, a glicerol quinase e a glicose-6-fosfato-desidrogenase.

CONCLUSÃO

A glicerina bruta pode substituir parte dos ingredientes convencionalmente utilizados no suprimento energético de curimatá (*P. lineatus*) e sua inclusão em 4% da dieta promove melhora no crescimento e no desempenho produtivo dos peixes durante a fase juvenil, sem prejudicar sua saúde.

AGRADECIMENTOS

O autor agradece ao Prof. Dr. Paulo Cesar Pozza pelas análises de energia, ao Laboratório Clínico do Hospital Veterinário da UFPR Campus Palotina, em especial ao Me. Pedro Argel Zadinelo Moreira pelas análises de sangue, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro e pela bolsa concedida.

REFERÊNCIAS

Ashade, O. O.; Osineye, O. M. (2013) Effect of replacing maize with cocoa pod husk in the nutrition of *Oreochromis niloticus*. Journal of Fisheries and Aquatic Science 8(1): 73-79.

- Baldisserotto, B. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. 2. ed. Santa Maria: UFSM, 2009. 352p.
- Balen, R. E.; Tetu, P. N.; Bombardelli, R. A.; Pozza, P. C.; Meurer, F. (2014) Digestible energy of crude glycerol for pacu and silver catfish. *Ciência Rural*, 44(8): 1448-1451.
- Bernardes, C. L.; Públio, J. Y. (2012) Proteína bruta no desenvolvimento de curimbas (*Prochilodus scrofa*). *Semina: Ciências Agrárias* 33(1): 381-390.
- Beserra, V. A.; Cesar, A. S.; Peres, A. A. C. (2016) Adoção da glicerina bruta na dieta animal e seu impacto no produto final. *Archivos de Zootecnia* 65(250): 259-266.
- Bicudo, A. J. A.; Cyrino, J. E. P. (2009) Estimating amino acid requirement of Brazilian freshwater fish from muscle amino acid profile. *Journal of the World Aquaculture Society* 40(6): 818-823.
- Bijvelds, M. J. C.; Van Der Velden, J. A.; Kolar, Z. I.; Flik, G. (1998) Magnesium transport in freshwater teleosts. *The Journal of Experimental Biology* 201: 1981-1990.
- Bomfim, M. A. D.; Lanna, E. A. T.; Serafini, M. A.; Ribeiro, F. B.; Pena, K. S. (2005) Proteína bruta e energia digestível em dietas para alevinos de curimatá (*Prochilodus affinis*). *Revista Brasileira de Zootecnia* 34(6): 1795-1806.
- Bone, Q.; Moore, R. H. *Biology of fishes*. 3rd ed. New York: Taylor & Francis Group, 2008. 478p.
- Costa, D. V.; Paulino, R. R.; Okamura, D.; Oliveira, M. M.; Vieira e Rosa, P. (2015) Growth and energy metabolism of Nile tilapia juveniles fed glycerol. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 50(5): 347-354.
- Dasari, M. A.; Kiatsimkul, P. P.; Sutterlin, W. R.; Suppes, G. J. (2005) Low-pressure hydrogenolysis of glycerol to propylene glycol. *Applied Catalysis A: General*, 281: 225-231.
- Evans, D. H.; Piermarini, P. M.; Choe, K. P. (2005) The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. *Physiological Reviews* 85(1): 97-177.
- Fabregat, T. E. H. P.; Pereira, T. S.; Boscolo, C. N.; Alvarado, J. D.; Fernandes, J. B. K. (2011) Substituição da farinha de peixe pelo farelo de soja em dietas para juvenis de curimba. *Boletim do Instituto de Pesca* 37(3): 289-294.
- Fan, X.; Burton, R.; Zhou, Y. (2010) Glycerol (Byproduct of Biodiesel Production) as a Source for Fuels and Chemicals – Mini Review. *The Open Fuels & Energy Science Journal* 3: 17-22

- Faria, A. C. E. A.; Benedito, E. (2011) Quality and digestibility of food ingested by various trophic fish groups in the Upper Paraná River floodplain. *Revista de Biología Tropical* 59(1): 85-101.
- Froese, R.; Pauly, D. Editors. 2011. FishBase. World Wide Web electronic publication. Disponível em: <www.fishbase.org>. Acesso em: 04 jun. 2014.
- Galdioli, E. M.; Hayashi, C.; Soares, C. M.; Furuya, W. M.; Nagae, M. Y. (2000) Diferentes fontes protéicas na alimentação de alevinos de curimba (*Prochilodus lineatus* V.). *Acta Scientiarum* 22(2): 471-477.
- Gonçalves, L. U.; Cerozi, B. S.; Castro Silva, T. S.; Zanon, R. B.; Cyrino, J. E. P. (2015) Crude glycerin as dietary energy source for Nile tilapia. *Aquaculture* 437: 230-234.
- Hardy, R. W.; Sullivan, C. V.; Koziol, A. M. (1987) Absorption, body distribution, and excretion of dietary zinc by rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Fish Physiology and Biochemistry* 3(3): 133-143.
- Hickman Jr., C. P. (1968) Ingestion, intestinal absorption and elimination of sea water and salts in the southern flounder, *Paralichthys lethostigma*. *Canadian Journal of Zoology* 46: 457-466.
- Jun, S. A.; Moon, C.; Kang, C. H.; Kong, S. W.; Sang, B. I.; Um, Y. (2010) Microbial fed-batch production of 1,3-propanediol using raw glycerol with suspended and immobilized *Klebsiella pneumoniae*. *Appl Biochem Biotechnol* 161: 491-501.
- Kaune, R.; Hentschel, H. (1987) Stimulation of renal phosphate secretion in the stenohaline freshwater teleost: *Carassius auratus gibelio* Bloch. *Comparative Biochemistry and Physiology* 87A: 359-362.
- Kimura, F. T.; Miller, V. L. (1957) Improved determination of chromic oxide in cow feed and feces. *Journal of Agricultural Foodstuffs Chemistry* 5:216.
- Li, M. H.; Minchew, C. D.; Oberle, D. F.; Robinson, E. H. (2010) Evaluation of glycerol from biodiesel production as a feed ingredient for Channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Journal of the World Aquaculture Society* 41:130-136.
- Luz, K. D. G.; Abujanra, F.; Agostinho, A. A.; Gomes, L. C. (2001) Caracterização trófica da ictiofauna de três lagoas da planície aluvial do alto rio Paraná, Brasil. *Acta Scientiarum* 23: 401-407.
- Menton, D. J.; Slinger, S. J.; Hilton, J. W. (1986) Utilization of free glycerol as a source of dietary energy in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture* 56: 215-227.

- Meurer, F.; Franzen, A.; Piovesan, P.; Rossato, K. A.; Santos, L. D. (2012) Apparent energy digestibility of glycerol from biodiesel production for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1758). *Aquaculture Research* 43: 1734-1737.
- Meurer, F.; Tovo Neto, A.; Silva, L. C. R.; Cagol, L.; Theisen, M. T.; Santos, L. D. (2015) Crude glycerol in diets for Nile tilapia sex reversal (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1758). *Aquaculture Research* 1-4. doi:10.1111/are.12714.
- Moraes, M. F. P. G.; Barbola, I. F.; Guedes, E. A. C. (1997) Alimentação e relações morfológicas com o aparelho digestivo do "curimbatá", *Prochilodus lineatus* (Valenciennes) (Osteichthyes, Prochilodontidae), de uma lagoa do sul do Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 14 (1): 169-180.
- National Research Council (NRC) Nutrient requirements of fish and shrimp. Washington: The National Academies Press, 2011.
- Neu, D. H.; Furuya, W. M.; Yamashiro, D.; Bittencourt, F.; Moro, E. B.; Fernandes, D. R. A.; Boscolo, W. R.; Feiden, A. (2012a) Glicerol na dieta de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Agrarian* 5: 288-294.
- Neu, D. H.; Furuya, W. M.; Boscolo, W. R.; Bueno, G. W.; Potrich, F. R.; Feiden, A. (2012b) Energia digestível de diferentes fontes de glicerol para a Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Ciências Agrárias* 7: 174-179.
- Neu, D. H.; Furuya, W. M.; Boscolo, W. R.; Potrich, F. R.; Lui, T. A.; Feiden, A. (2013) Glycerol inclusion in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles. *Aquaculture Nutrition* 19: 211-217.
- Oliveira, J. S.; Antoniassi, R.; Freitas, S. C.; Müller, M. D. (2013) Composição química da glicerina produzida por usinas de biodiesel no Brasil e potencial de uso na alimentação animal. *Ciência Rural* 43: 509-512.
- Pagliari, M.; Rossi, M.; The future of glycerol - new usages for a versatile raw material. 2nd ed. Cambridge: RSC Publishing, 2010. 192p.
- Pereira, P. A. P.; Andrade, J. B. (1998) Fontes, reatividade e quantificação de metanol e etanol na atmosfera. *Química Nova*, 21(6): 744-754.
- Prasad, N.; Bhadauria, D. (2013) Renal phosphate handling: physiology. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism* 17(4): 620-627.
- Sá, M. V. C. Limnocultura: limnologia para aquicultura. Fortaleza: Edições UFC, 2012. 218p.
- Sousa, J. A. (1983) Digestibilidade da fração protéica em dietas isocalóricas pelo curimbatá, *Prochilodus scrofa*, Steindachner, 1881 (Pisces, Prochilodontidae). 1983. 42 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

- Srivastava, A.; Prasad, R. (2000) Triglycerides-based diesel fuels. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 4: 111-133.
- Stelmachowski, M. (2011) Utilization of glycerol, a by-product of the transesterification process of vegetable oils: a review. *Ecological Chemistry and Engineering S* 18(1): 9-30.
- Tavares-Dias, M. Parâmetros sanguíneos de referência para espécies de peixes cultivados. In: Tavares-Dias, M. & Mariano, W.S. (Org.). *Aquicultura no Brasil: novas perspectivas*. Vol. 1. São Carlos: Editora Pedro & João, 2015. p. 20.
- Universidade Federal de Viçosa – UFV. SAEG 9.1: Sistema de Análises Estatística. Viçosa: Fundação Arthur Bernardes, 2007. (CD-ROM).
- Yang, F.; Hanna, M. A.; Sun, R. (2012) Value-added uses for crude glycerol—a byproduct of biodiesel production. *Biotechnology for Biofuels* 5:13.
- Zijlstra, R. T.; Menjivar, K.; Lawrence, E.; Beltranena, E. (2009) The effect of feeding crude glycerol on growth performance and nutrient digestibility in weaned pigs. *Canadian Journal of Animal Science* 89(1): 85-89.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A glicerina bruta apresenta para energia um coeficiente de digestibilidade aparente superior aos relatados para outros alimentos energéticos fornecidos tanto para o jundiá (*R. quelen*) como para o pacu (*P. mesopotamicus*), mostrando ser uma fonte de energia com grande potencial para substituir os ingredientes convencionalmente utilizados na dieta de peixes onívoros.

A absorção e o aproveitamento da glicerina ocorre de modo diferente entre espécies iliófagas-detritívoras e onívoras. Apesar disso, mesmo que a energia digestível provida seja inferior à observada para o pacu e o jundiá, a glicerina bruta pode suprir parte das necessidades energéticas de curimbatá (*P. lineatus*), antes atendida principalmente pelo amido.

A glicerina bruta pode substituir a maior parte do milho presente na dieta de juvenis de jundiá sem prejudicar os principais parâmetros de crescimento, bioquímicos do sangue e de desempenho produtivo de juvenis, sendo que o nível estimado de 76,76% de substituição promove um menor teor de gordura corporal nos animais.

A inclusão de apenas 4% de glicerina bruta na dieta de curimbatá já é suficiente para promover o maior crescimento dos juvenis e melhorar alguns dos parâmetros zootécnicos mais importantes na produção animal, sem interferir na saúde e sobrevivência dos peixes.

O uso da glicerina proveniente da produção de biodiesel tem uma aplicação segura quando incluída na alimentação animal, desde que se respeite os níveis adequados para cada espécie, apresentando boa absorção e contribuindo para a melhora do desempenho produtivo também de peixes. Deste modo, pode ser utilizada como um ingrediente substituto do milho na dieta de pacu, jundiá e curimbatá.

No entanto, a viabilidade econômica de seu uso depende da relação de preços existente entre esses ingredientes no momento da fabricação da ração. Como no período de entressafra do milho ocorre o aumento do seu preço no mercado e, conseqüentemente, do custo da ração, a glicerina bruta pode ser utilizada alternativamente como fonte dietética de energia, uma vez que está disponível o ano todo na maior parte do país.

Enfim, os resultados obtidos na presente tese auxiliam na promoção da criação de espécies nativas de peixes, a qual pode ser um importante meio para se obter a diminuição da pesca predatória de populações naturais, além de fortalecer a cadeia produtiva perante aquela de espécies exóticas.

APÊNDICE

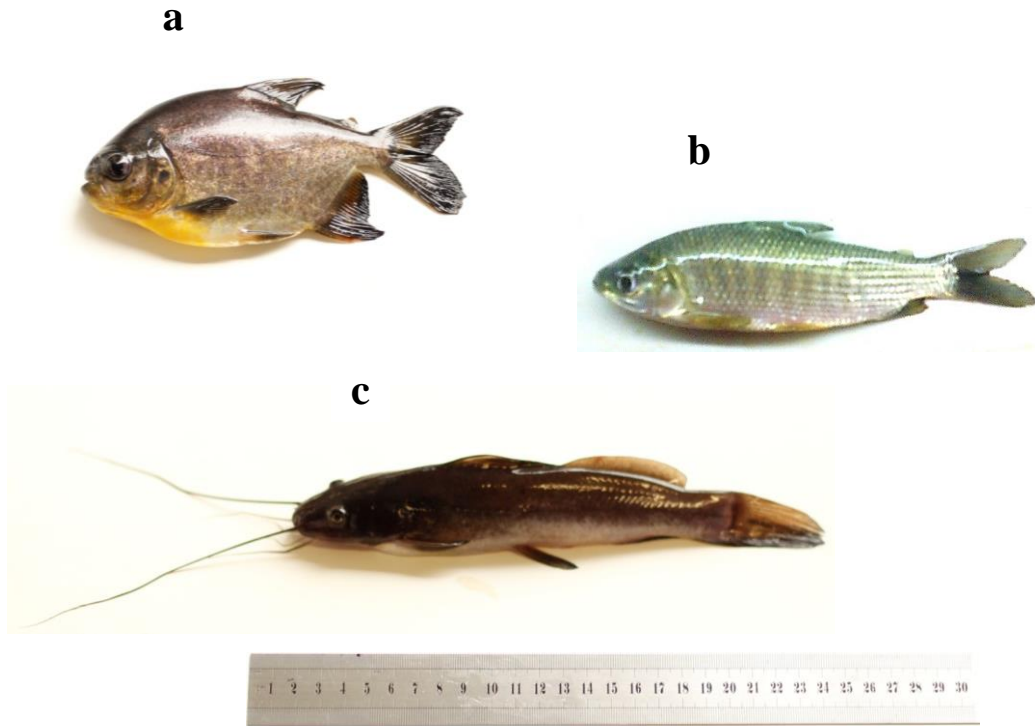


Figura 1A – Exemplos das espécies estudadas: *Piaractus mesopotamicus* (a), *Prochilodus lineatus* (b) e *Rhamdia quelen* (c).

FONTE: William Franco Carneiro (2015).



Figura 2A – Colheita de sangue de *Rhamdia quelen* por meio de punção caudal.

FONTE: William Franco Carneiro (2015).

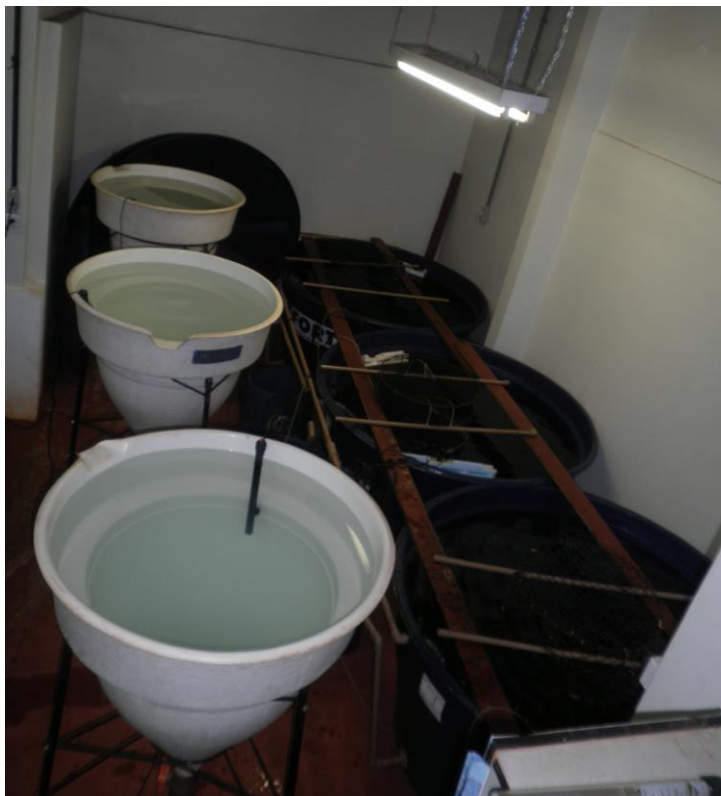


Figura 3A – Estrutura física utilizada para alimentação e coleta de fezes no ensaio de digestibilidade.
FONTE: O autor (2014).



Figura 4A – Pós-pesagem dos ingredientes utilizados em uma das dietas experimentais.
FONTE: O autor (2013).