

ENERGIA DIGESTÍVEL E INCLUSÃO DA GLICERINA BRUTA EM DIETAS PARA JUVENIS DE CURIMBATÁ*

Rafael Ernesto BALEN¹, Gilson BUENO JUNIOR², Leda Maria Saragiotto COLPINI³, Robie Allan BOMBARDELLI⁴, Lilian Carolina Rosa da SILVA², Fábio MEURER^{1,2}

RESUMO

O curimatá é um importante recurso pesqueiro, porém pouco se sabe sobre suas exigências nutricionais. O objetivo deste trabalho foi determinar o coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) e o efeito da inclusão da glicerina bruta (GB) em dietas para juvenis do curimatá *Prochilodus lineatus*. Foram coletadas fezes de peixes alimentados com dieta-referência, baseada em ingredientes de origem vegetal, e com dieta-teste, tendo o marcador inerte óxido de cromo III (0,1%). No experimento de crescimento foram utilizados 750 juvenis (18,71±2,70 g) em delineamento experimental inteiramente casualizado, com seis tratamentos (dietas contendo 0, 4, 8, 12, 16 e 20% GB) e cinco repetições, durante 64 dias. Para *P. lineatus*, a GB apresentou CDA de 0,76 para energia bruta e energia digestível de 2.850,99 kcal kg⁻¹ da dieta. Os diferentes níveis de inclusão afetaram o peso final (PFM), conversão alimentar (CAA), taxa de crescimento específico (TCE) e ganho de peso (GPM), além dos níveis sanguíneos de glicose e de triglicérides. A análise de regressão mostrou efeito linear negativo das dietas sobre PFM, TCE e GPM e efeito linear positivo sobre CAA. A glicerina bruta pode ser utilizada como fonte de energia e sua inclusão em 4% da dieta promove um melhor desempenho produtivo do curimatá.

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

DIGESTIBLE ENERGY AND INCLUSION OF CRUDE GLYCERIN IN DIETS FOR CURIMBATÁ JUVENILES

ABSTRACT

The curimatá is an important fishery resource, however, little is known about its nutritional requirements. This work aimed to determine the apparent digestibility coefficient (ADC) and the effect of the inclusion of crude glycerin (CG) in the diet for curimatá (*Prochilodus lineatus*) juveniles. Feces were collected from fish fed with reference diet based on ingredients of plant origin and a test diet, having the inert marker chromium (III) oxide (0.1%). In the growth experiment, 750 juveniles (18.71 ± 2.70 g) were used in a completely randomized design, with six treatments (diets containing 0, 4, 8, 12, 16, and 20% CG) and five repetitions, for 64 days. For *P. lineatus*, CG presented ADC of 0.76 for crude energy and digestible energy of 2,850.99 kcal kg⁻¹ of the diet. The different levels of inclusion affected the final weight (FW), feed conversion rate (FCR), specific growth rate (SGR), and weight gain (WG), in addition to blood levels of glucose and triglycerides. Regression analysis showed a negative linear effect of the diets on FW, SGR, and WG, and a positive linear effect on FCR. Crude glycerin can be used as an energy source and its inclusion in 4% of the diet improves the productive performance of curimatá.

Key words: Characiformes; non-protein energy; glycerol; native fish

Artigo Científico: Recebido em 01/12/2016; Aprovado em 20/06/2017

¹Universidade Federal do Paraná - UFPR, Programa de Pós-graduação em Zoologia, Centro Politécnico, Caixa Postal 19020, CEP: 81531-980, Curitiba - PR - Brasil. E-mail: rebalen@ufpr.br (autor correspondente)

²Universidade Federal do Paraná, Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável, Palotina - PR - Brasil

³Universidade Federal do Paraná, Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Bioprodutos Agroindustriais, Palotina - PR - Brasil

⁴Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE, Centro de Engenharia e Ciências Exatas, Toledo - PR - Brasil

* Apoio Financeiro: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq (Ed 252010 CTAgr C 1 - Processo: 561767/2010-6)

INTRODUÇÃO

A utilização de alimentos não convencionais ou mesmo resíduos e subprodutos agroindustriais para substituir ingredientes convencionais nas dietas de animais vem sendo bastante estudada e busca satisfazer as necessidades nutricionais das espécies e contribuir para a economia do sistema produtivo (ASHADE e OSINEYE, 2013).

A glicerina bruta é o principal subproduto da indústria de biodiesel e tem o glicerol como seu principal componente (SANTIBÁÑEZ *et al.*, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2013), motivo pelo qual ambos os termos são utilizados para se referir ao mesmo produto. A possibilidade do uso da glicerina bruta em rações tem sido investigada devido ao aumento do preço do milho e à excessiva quantidade de glicerina produzida (YANG *et al.*, 2012), uma vez que os valores energéticos do milho e do glicerol são similares (ZIJLSTRA *et al.*, 2009).

O glicerol é uma pequena molécula rapidamente absorvida pelo trato gastrointestinal dos animais (LIN, 1977), podendo ser convertido em glicose, via gliconeogênese, ou oxidado para a produção de energia, via glicólise e ciclo de Krebs (ROBERGS e GRIFFIN, 1998). É utilizado como importante substrato gliconeogênico, principalmente no fígado e nos rins, com sua entrada ocorrendo na forma de gliceraldeído-3-fosfato, ao passo que seu ingresso na via glicolítica se realiza na forma de diidroxiacetona fosfato (HAGOPIAN *et al.*, 2008).

Estudos envolvendo a utilização do glicerol bruto na dieta de peixes iniciaram-se com o bagre-do-canal, porém, sem levar em conta o valor digestível desse ingrediente (LI *et al.*, 2010). Posteriormente foi relatado seu potencial uso como fonte energética para tilápia-do-nylo (MEURER *et al.*, 2012), pacu e jundiá (BALEN *et al.*, 2014).

Para a tilápia-do-nylo, o nível de inclusão recomendado durante a fase de reversão sexual é de até 11% de glicerol na dieta (MEURER *et al.*, 2016), enquanto que sua utilização foi desencorajada em alevinos devido à alta mortalidade ocorrida quando criados em baixas temperaturas (NEU *et al.*, 2012a). Apesar de até 10% de glicerol na dieta não ter prejudicado o desempenho produtivo e a saúde de juvenis (NEU *et al.*, 2013), o melhor ganho de peso foi alcançado com sua inclusão em 5,9% da dieta (GONÇALVES *et al.*, 2015). Além disso, níveis acima de 10% o caracterizaram como nutriente lipogênico (COSTA *et al.*, 2015).

O gênero *Prochilodus* é um dos grupos de peixes de água doce mais abundante e amplamente distribuído na América do Sul, compreendendo 13 espécies válidas (CASTRO e VARI, 2003, 2004). No Brasil, os representantes desse gênero foram responsáveis pelos maiores volumes de desembarques pesqueiros no ano de 2011, com cerca de 11,75% do total da produção continental (MPA, 2013).

O curimatá *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1837) é um peixe iliófago-detritívoro presente nas bacias dos rios Paraná, Paraguai e Paraíba do Sul, muito importante para a pesca e aquicultura (FROESE e PAULY, 2011). No período de 1945 a 1984, essa espécie constituiu 40% da pesca total do rio Paraná, 86% do rio da Prata e 95% do rio Uruguai (SVERLIJ *et al.*, 1993). Um dos raros estudos sobre a exigência nutricional de curimatá foi realizado com a espécie *Prochilodus affinis*, apontando que a exigência de proteína bruta e energia digestível de alevinos é de 260,5 g kg⁻¹ e 2700 kcal kg⁻¹ da dieta, respectivamente (BOMFIM *et al.*, 2005). Deste modo, as necessidades nutricionais de *P. lineatus* ainda precisam ser estudadas.

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

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos de digestibilidade aparente da energia bruta e de crescimento dos peixes foram conduzidos no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos (LANO AQ) da Universidade Federal do Paraná (UFPR), em Palotina - PR. Os procedimentos adotados na condução deste estudo estão de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal e foram aprovados pela Comissão de Ética e Uso de Animais (CEUA) da UFPR, Campus Palotina (protocolo nº 14/2011).

Ensaio de digestibilidade

O coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) para energia foi mensurado indiretamente utilizando-se 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 em *Prochilodus lineatus*.

Ingrediente	Dieta 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	0,50	0,50
Óxido de cromo III (Cr ₂ O ₃)	0,10	0,10

¹ Níveis de garantia por quilograma do produto: Vitamina A, 1.200.000 UI; Vitamina D₃, 200.000 UI; Vitamina E, 12.000 mg; Vitamina K₃, 2.400 mg; Vitamina B₁, 4.800 mg; Vitamina B₂, 4.800 mg; Vitamina B₆, 4.000 mg; Vitamina B₁₂, 4.800 mg; Ácido fólico, 1.200 mg; Pantotenato de cálcio, 12.000 mg; Vitamina C, 48.000 mg; Biotina, 48 mg; Colina, 65.000 mg; Niacina, 24.000 mg; Ferro, 10.000 mg; Cobre, 6.000 mg; Manganês, 4.000 mg; Zinco, 6.000 mg; Iodo, 20 mg; Cobalto, 2 mg; Selênio, 20 mg.

Juvenis de curimatá ($n=90$; peso inicial médio de $66,47 \pm 20,06$ g) foram estocados em três gaiolas de tela plástica mantidas durante o dia dentro de tanques de polietileno de 1.000 L em sistema de recirculação, onde se realizava a alimentação dos peixes (11h e 17h30). Em seguida (18h), as gaiolas eram transferidas para três tanques cônico-cilíndricos independentes de 200 L, para coleta das fezes na manhã seguinte (7h). Os procedimentos de fabricação da ração e de coleta, armazenamento e processamento das fezes foram realizados conforme indicado em BALEN *et al.* (2014). O conteúdo de energia bruta foi mensurado por combustão em bomba calorimétrica (modelo Parr 6200) e o conteúdo de óxido de cromo das dietas e das fezes, determinado por meio de um processo envolvendo digestão por ácido nitro-perclórico seguida de medição por espectrometria de absorção atômica (KIMURA e MILLER, 1957). O valor do CDA da energia da glicerina bruta para *P. lineatus* foi calculado de acordo com NRC (2011), como segue:

$$CDA_{\text{ingrediente-teste}} = CDA_{\text{dieta-teste}} + \left\{ (CDA_{\text{dieta-teste}} - CDA_{\text{dieta-referência}}) \times \left[\frac{\text{Percentual da dieta-referência na dieta-teste} \times \text{Energia bruta}_{\text{dieta-referência}}}{\text{Percentual do ingrediente-teste} \times \text{Energia bruta}_{\text{ingrediente-teste}}} \right] \right\}$$

Ensaio de crescimento

Foram utilizados 750 juvenis de curimatá (*P. lineatus*), com peso inicial médio de $18,71 \pm 2,70$ g, 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%) de glicerina bruta derivada do biodiesel, sendo isoproteicas, isoenergéticas, isocalcíticas e isofosfóricas (Tabela 2). O teor de proteína bruta empregado foi baseado na exigência de *P. affinis* (BOMFIM *et al.*, 2005). Para a fabricação das rações, os ingredientes foram triturados utilizando peneira de 0,5 mm, misturados e então processados. Devido ao hábito alimentar da espécie, as rações foram submetidas ao processo de peletização, realizado em peletizadora experimental pelo umedecimento prévio da mistura com água à temperatura de 52 °C. Após a peletização, as mesmas foram secas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 24 h. As rações foram fornecidas quatro vezes ao dia (7h30, 11h, 14h30 e 18h) durante 64 dias.

As caixas de polietileno 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 conectado a tubos de PVC que distribuíam oxigênio para cada unidade experimental por meio de mangueiras de silicone com pedras porosas nas extremidades. Antes da última alimentação diária foi realizado sifonamento de aproximadamente 100 L de água em cada unidade experimental para remoção das possíveis sobras de rações, fezes e matéria orgânica. 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 as temperaturas mínima ($26,74 \pm 1,01$ °C) e máxima ($29,51 \pm 1,37$ °C) e o oxigênio dissolvido ($5,45 \pm 0,06$ mg L⁻¹) foram aferidos diariamente. Os valores das variáveis químicas

estão dentro da faixa recomendada para cultivos em água doce, segundo SÁ (2012), e os de temperatura,

conforme o indicado em BALDISSEROTTO (2009) para o conforto térmico de espécies tropicais.

Tabela 2. Formulação e composição químico-bromatológica das rações experimentais contendo diferentes níveis de glicerina bruta, com base na matéria natural.

Ingredientes	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 ²	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
Calcário calcítico	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
Composição calculada						
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 (%) ³	26,000	26,000	26,000	26,000	26,000	26,000

¹ Níveis de garantia por quilograma do 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

² Butil Hidroxi Tolueno (Antioxidante)

³ De acordo com a exigência de *Prochilodus affinis* (BOMFIM *et al.*, 2005)

Ao final do período experimental e jejum de 24 h, os peixes foram anestesiados com benzocaína 10% (Merck, Darmstadt, Germany) e pesados individualmente. Três exemplares de cada unidade experimental foram eutanasiados e dissecados a fim de se obterem dados de peso eviscerado com e sem cabeça, peso do tronco limpo e peso do fígado. Posteriormente foram calculados os valores

de ganho de peso, taxa de crescimento específico, conversão alimentar aparente, taxa de sobrevivência, rendimento de carcaça com e sem cabeça, rendimento de tronco limpo e índice hepatossomático.

Para determinação da concentração plasmática de glicose, proteínas totais, colesterol total e triglicerídeos, coletaram-se amostras de sangue de três indivíduos de cada unidade experimental,

as quais, com cerca de 1,5 mL cada uma, 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 efetuada no Analisador Bioquímico Quick Lab II®.

As análises estatísticas foram executadas utilizando-se o software SAEG 9.1 - Sistema de Análises Estatística (UFV, 2007). Os dados de 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 as médias ($p < 0,05$), aplicaram-se o teste de Tukey e a análise de regressão.

RESULTADOS

O valor médio do CDA da energia fornecida pela glicerina bruta foi de $0,76 \pm 0,05$ para o curimbatá *Prochilodus lineatus*. Como este ingrediente

apresentou $3.749,76 \text{ kcal kg}^{-1}$ de energia bruta, a energia digestível fornecida para essa espécie foi de $2.850,99 \text{ kcal kg}^{-1}$ de dieta.

Os resultados dos parâmetros de desempenho produtivo de juvenis de *P. lineatus* estão apresentados na Tabela 3. Observou-se influência dos níveis de glicerina na dieta sobre o peso final médio, conversão alimentar aparente, taxa de crescimento específico e ganho de peso. Para o peso final, a dieta 4% de glicerina bruta proporcionou os maiores valores, seguida daquelas com 0 e 12%, sendo os menores valores de peso final obtidos com a dieta 20% de inclusão. As médias de conversão alimentar foram menores com as dietas sem glicerina e com inclusão de 4%, seguidas pelas dietas 8 e 12%, sendo as piores conversões observadas nos tratamentos com 16 e 20% de glicerina. Para a taxa de crescimento específico e o ganho de peso médio, a dieta 4% promoveu os maiores valores, seguida do tratamento sem adição de glicerina, e os menores valores foram obtidos com a dieta 20% de inclusão. Os rendimentos de carcaça com cabeça, sem cabeça e de tronco limpo, assim como o índice hepatossomático, não foram influenciados pelas dietas. Não ocorreu mortalidade durante o experimento.

Tabela 3. Desempenho produtivo de juvenis de curimbatá alimentados durante 64 dias com dietas contendo diferentes níveis de glicerina bruta.

Variável	Nível de inclusão da glicerina bruta (%)					
	0	4	8	12	16	20
PFM	28,97 \pm 0,37ab	29,84 \pm 0,69a	28,41 \pm 1,13bc	28,77 \pm 0,50ab	27,34 \pm 0,53cd	26,66 \pm 1,03d
CAA	2,88 \pm 0,16b	2,70 \pm 0,07b	3,15 \pm 0,13ab	3,06 \pm 0,11ab	3,40 \pm 0,28a	3,55 \pm 0,29a
TCE	0,89 \pm 0,05ab	0,94 \pm 0,02a	0,84 \pm 0,07abc	0,87 \pm 0,04abc	0,78 \pm 0,07bc	0,75 \pm 0,05c
GPM	12,74 \pm 0,75ab	13,56 \pm 0,35a	11,35 \pm 0,47bcd	12,22 \pm 0,41abc	10,78 \pm 0,86cd	10,13 \pm 0,86d
RCC	85,43 \pm 2,18	87,61 \pm 0,94	87,63 \pm 0,81	87,08 \pm 1,34	86,85 \pm 0,83	87,48 \pm 1,02
RCS	68,44 \pm 1,75	68,45 \pm 1,14	65,88 \pm 2,61	65,85 \pm 2,32	65,61 \pm 1,77	67,98 \pm 1,41
RTL	49,00 \pm 0,85	51,26 \pm 0,55	49,85 \pm 1,71	49,84 \pm 0,88	49,03 \pm 0,72	49,72 \pm 1,35
IHS	0,41 \pm 0,11	0,44 \pm 0,09	0,43 \pm 0,03	0,47 \pm 0,13	0,42 \pm 0,09	0,43 \pm 0,09
SOB	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00

PFM, peso final médio (g); CAA, conversão alimentar aparente; TCE, taxa de crescimento específico (% dia⁻¹); GPM, ganho de peso médio (g); RCC, rendimento de carcaça com cabeça (%); RCS, rendimento de carcaça sem cabeça (%); RTL, rendimento de tronco limpo (%); IHS, índice hepatossomático; SOB, sobrevivência (%). Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Houve efeito linear das dietas sobre o peso final médio, conversão alimentar aparente, taxa de crescimento específico e ganho de peso (Figura 1). À medida que os níveis de inclusão da glicerina bruta aumentaram, observou-se diminuição dos valores de peso final ($y = -0,139x + 29,746$; $r^2 = 0,501$), taxa

de crescimento específico ($y = -0,0082x + 0,9262$; $r^2 = 0,465$) e ganho de peso ($y = -0,1436x + 13,229$; $r^2 = 0,560$). De modo inverso, à medida que os níveis de inclusão aumentaram ocorreu aumento dos valores de conversão alimentar ($y = 0,0376x + 2,7502$; $r^2 = 0,565$).

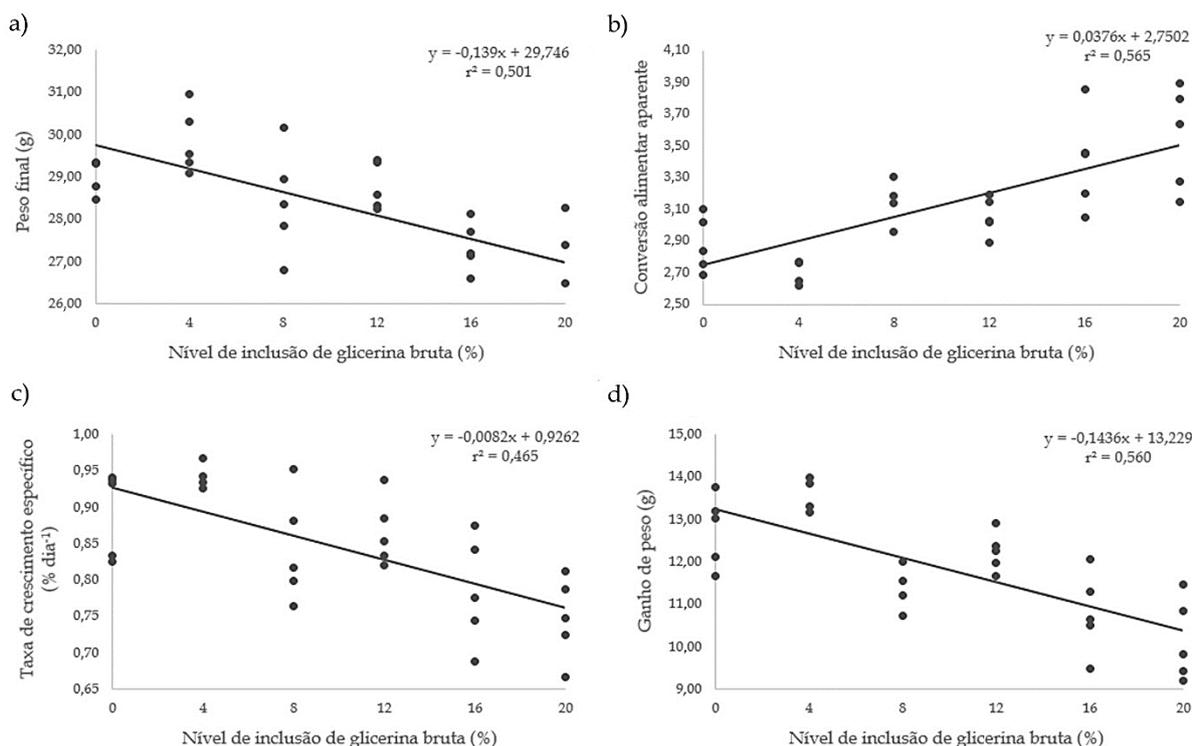


Figura 1. Efeito linear da inclusão de glicerina bruta na alimentação de juvenis de curimatá sobre o peso final (a), conversão alimentar aparente (b), taxa de crescimento específico (c) e ganho de peso (d).

As taxas de glicose plasmática e de triglicerídeos foram influenciadas pelos níveis de glicerina na dieta, ao contrário do observado para proteínas totais e colesterol total, em que não foram constatadas diferenças significativas entre suas taxas (Tabela 4). O nível de glicerina que proporcionou a menor concentração de glicose plasmática foi o de 4%, seguido pelos níveis de 8, 12, 16 e 20%, e com a

maior concentração decorrente do nível sem adição de glicerina (0%). A inclusão de glicerina bruta promoveu um efeito quadrático sobre a taxa de triglicerídeos do sangue ($y = -0,2696x^2 + 5,1634x + 164,58$; $r^2 = 0,119$), com o ponto de máxima sendo observado na inclusão de 9,58% de glicerina. Por sua vez, a dieta com inclusão de 16% foi a que proporcionou os menores valores dessa variável.

Tabela 4. Parâmetros bioquímicos do plasma sanguíneo de juvenis de curimatá alimentados durante 64 dias com dietas contendo diferentes níveis de glicerina bruta.

Variável	Nível de inclusão do glicerina bruta (%)					
	0	4	8	12	16	20
PTT	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	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	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	157,08±4,63ab	191,40±9,92ab	180,50±24,43ab	209,18±36,22a	140,06±9,08b	172,67±30,85ab

PTT, proteínas totais (g dL⁻¹); GLI, glicose (mg dL⁻¹); CLT, colesterol total (mg dL⁻¹); TGC, triglicerídeos (mg dL⁻¹). Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

DISCUSSÃO

O coeficiente de digestibilidade aparente da energia da glicerina bruta em *P. lineatus* foi menor

que os descritos em tilápia-do-nylo por MEURER *et al.* (2012) (CDA de 0,89) e NEU *et al.* (2012b) (0,81 para o glicerol semipurificado misto). No entanto, foi maior que os valores observados para o glicerol bruto de

óleo vegetal (0,58) e para o glicerol semipurificado vegetal (0,47) na espécie *Oreochromis niloticus* (NEU *et al.*, 2012b).

Ainda que o hábito alimentar difira entre essas espécies, a variação dos resultados de digestibilidade também pode estar relacionada a prováveis diferenças entre os graus de pureza apresentadas 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.

No presente estudo, os valores de peso final foram similares aos de *P. lineatus* criados em tanques de terra e alimentados com rações comerciais durante 150 dias (BERNARDES e PÚBLIO, 2012). A conversão alimentar foi semelhante e os ganho de peso e a taxa de crescimento específico foram superiores aos relatados para *P. affinis* (BOMFIM *et al.*, 2005), apesar da ausência de aminoácidos sintéticos na dieta e de o período de cultivo ter sido menor. No entanto, os valores registrados neste trabalho para os aminoácidos lisina e metionina+cistina foram superiores aos estimados para *P. lineatus* (BICUDO e CYRINO, 2009).

A adição de até 12% de glicerina bruta na dieta promoveu melhor conversão alimentar que aquelas relatadas para curimatás de até 8 g (conversão de 3,34 a 3,61, quando utilizada fonte proteica de origem animal, e de 4,51, sem o uso de ingredientes de origem animal) (FABREGAT *et al.*, 2011), e para juvenis em torno de 20 g (conversão 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).

A inclusão da glicerina não acarretou no aumento do peso relativo do fígado, sugerindo que não ocorreu sobrecarga desse órgão, decorrente tanto do processo de metabolização dos nutrientes absorvidos, com a consequente deposição de lipídeos ou de glicogênio, quanto da toxicidade de algum componente da dieta. NEU *et al.* (2013) observaram que dietas contendo até 10% de glicerol bruto não provocaram aumento do índice hepatossomático em juvenis de tilápia-do-nylo, contudo, LI *et al.* (2010) verificaram que níveis de glicerol superiores a 10% causaram aumento desse índice em bagre-do-canal durante a mesma fase de desenvolvimento.

O nível de glicerina bruta na dieta que promoveu os melhores resultados para *P. lineatus* neste trabalho

foi menor que o recomendado para peixes onívoros, como o bagre-do-canal (LI *et al.*, 2010) e a tilápia-do-nylo (NEU *et al.*, 2013; GONÇALVES *et al.*, 2015; MEURER *et al.*, 2016).

Ao contrário do que se verifica nessas espécies, o curimatá possui estômago com parede muscular extremamente desenvolvida, o qual atua como uma moela, e um longo intestino intensamente enovelado (MORAES *et al.*, 1997), especializações essas requeridas para melhorar o aproveitamento dos recursos alimentares utilizados, já que sua dieta possui baixo valor nutritivo e é obtida após a ingestão de grande quantidade de lodo e de detritos associados à matéria orgânica, invertebrados e micro-organismos (LUZ *et al.*, 2001). Assim, mesmo consumindo alimentos contendo valores de proteína e de energia baixos, apresenta elevado coeficiente de digestibilidade para os mesmos (FARIA e BENEDITO, 2011).

As dietas testadas no presente estudo foram formuladas promovendo a substituição do milho pela glicerina bruta, de forma que, à medida que a glicerina era adicionada ocorria diminuição da quantidade de amido disponível nas rações. Contudo, tal diminuição do amido não prejudicou a qualidade dos peletes, dado que a adesão dos ingredientes ocorreu normalmente, mesmo nas dietas com os maiores níveis de inclusão de glicerina.

Os valores de glicose e proteínas totais plasmáticas encontrados estão de acordo com os descritos como de referência para *P. lineatus* proveniente de cultivo intensivo (TAVARES-DIAS, 2015). A inclusão de glicerina bruta nas dietas influenciou a glicemia e a concentração plasmática de triglicerídeos de modo contrário ao relatado para juvenis de tilápia-do-nylo (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 para os peixes alimentados com as outras dietas (LI *et al.*, 2010). Já na dieta da truta arco-íris, espécie carnívora, o glicerol na forma purificada não foi considerado uma boa fonte energética, pois não teve efeito sobre os parâmetros de desempenho e os peixes passaram a apresentar hiperglicemia (MENTON *et al.*, 1986).

O glicerol dietético poder ser metabolizado em lipídeos, proteínas e/ou carboidratos e utilizado como fonte energética pela tilápia *Oreochromis mossambicus* (COSTA *et al.*, 2017). Como a menor concentração de glicose sanguínea foi observada para o nível de 4% e não ocorreu diferença na concentração de triglicerídeos entre os peixes alimentados com as

dietas contendo glicerol e a sem glicerol, é possível que o glicerol presente na glicerina bruta não tenha sido convertido em glicose nem em triglicerídeos, mas direcionado para o ciclo de Krebs, constituindo-se, efetivamente, em fonte de energia dietética para estes animais.

Deste modo, a utilização de glicerol na dieta possibilitaria um melhor aproveitamento dos nutrientes construtores absorvidos, e os aminoácidos disponíveis poderiam ser direcionados para a síntese proteica nos tecidos, proporcionando 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 o curimatá.

A não ocorrência de mortalidade verificada no presente trabalho contrasta com o registrado para tilápia-do-nylo, 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 razão do curto período de tempo, não se pôde detectar interferência das impurezas provavelmente 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 e 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 pelletização atua na diminuição do ponto de ebulição deste composto, que é de 64,7°C, conforme PEREIRA e ANDRADE (1998). Adicionalmente, 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 e MOORE, 2008), e a maioria dos sais pode ser eliminada diretamente na água pelas brânquias, dado que as mesmas desempenham papel importante na excreção de cálcio (HICKMAN JUNIOR, 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 e HENTSCHEL, 1987; PRASAD e BHADOURIA, 2013).

Estudos mais aprofundados são necessários para verificar a influência da glicerina sobre o metabolismo energético de *P. lineatus*, podendo ser realizadas análises da composição bromatológica do corpo inteiro, cortes individualizados e fígado, assim como a quantificação da concentração de glicose, triglicérides e proteínas no músculo e no fígado, além da atividade das enzimas envolvidas no metabolismo do glicerol.

CONCLUSÕES

A glicerina bruta pode substituir parte dos ingredientes convencionalmente utilizados no suprimento energético de curimatá (*Prochilodus lineatus*). O coeficiente de digestibilidade aparente da energia da glicerina bruta foi de 0,76 e a energia digestível fornecida para essa espécie foi de 2.850,99 kcal kg⁻¹ da dieta. Sua inclusão em 4% da dieta promove melhora no desempenho produtivo dos peixes, sem prejuízos à saúde durante a fase juvenil.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Paulo Cesar Pozza, pelas análises de energia, ao Laboratório Clínico do Hospital Veterinário da UFPR Campus Palotina, em especial ao MSc Pedro Argel Zadinelo Moreira, pelas análises de sangue, à Profa. Dra. Lilian Dena dos Santos, pelas análises de qualidade de água, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), 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. 2009 *Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura*. 2. ed. Santa Maria: UFSM. 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(13): 1981-1990.
- BOMFIM, M.A.D.; LANNA, E.A.T.; SERAFINI, M.A.; RIBEIRO, F.B.; PENNA, 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. 2008 *Biology of fishes*. 3rd ed. New York: Taylor & Francis Group. 478p.
- CASTRO, R.M.C.; VARI, R.P. 2003 Family Prochilodontidae. In: REIS, R.E.; KULLANDER, S.O.; FERRARIS JUNIOR, C.J. (Orgs.). *Check list of the freshwater fishes of South and Central America*. Porto Alegre: EDIPUCRS. p. 65-70.
- CASTRO, R.M.C.; VARI, R.P. 2004 *Detritivores of the South American fish family Prochilodontidae (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes): a phylogenetic and revisionary study*. Smithsonian contributions to Zoology, n. 622. Washington, D. C.: Smithsonian Books. 189p.
- COSTA, D.V.; DIAS, J.; COLEN, R.; ROSA, P.V.; ENGROLA, S. 2017 Partition and metabolic fate of dietary glycerol in muscles and liver of juvenile tilapia. *Archives of Animal Nutrition*, 71(2): 165-174.
- 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.
- 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.
- 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: 4 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(1): 230-234.
- HAGOPIAN, K.; RAMSEY, J.J.; WEINDRUCH, R. 2008 Enzymes of glycerol and glyceraldehyde metabolism in mouse liver: effects of caloric restriction and age on activities. *Bioscience Reports*, 28(2): 107-115.
- 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 JUNIOR, C.P. 1968 Ingestion, intestinal absorption and elimination of sea water and salts in the southern flounder, *Paralichthys lethostigma*. *Canadian Journal of Zoology*, 46(3): 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*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 161(1-8): 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 Part A: Physiology*, 87(2): 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(3): 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(1): 130-136.
- LIN, E.C.C. 1977 Glycerol utilization and its regulation in mammals. *Annual Review of Biochemistry*, 46: 765-795.
- 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(2): 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(3-4): 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(11): 1734-1737.
- MEURER, F.; TOVO NETO, A.; SILVA, L.C.R.; CAGOL, L.; THEISEN, M.T.; SANTOS, L.D. 2016 Crude glycerol in diets for Nile tilapia sex reversal (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1758). *Aquaculture Research*, 47(8): 2682-2685.
- 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.
- MPA (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: 4 jun. 2014.
- 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(17): 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(1): 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(2): 211-217.
- NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL 2011 *Nutrient requirements of fish and shrimp*. Washington: The National Academies Press. 376p.
- 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(3): 509-512.
- PAGLIARO, M.; ROSSI, M. 2010 *The future of glycerol - new usages for a versatile raw material*. 2nd ed. Cambridge: RSC Publishing, 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.
- PYLE, D.J.; GARCIA, R.A.; WEN, Z. 2008 Producing docosahexaenoic acid (DHA)-rich algae from biodiesel-derived crude glycerol: effects of impurities on DHA production and algal biomass composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(11): 3933-3939.
- ROBERGS, R.A.; GRIFFIN, S.E. 1998 Glycerol: biochemistry, pharmacokinetics and clinical and practical applications. *Sports Medicine* 26(3): 145-167.
- SÁ, M.V.C. 2012 *Limnocultura: limnologia para aquicultura*. Fortaleza: Edições UFC, 218p.
- SANTIBÁÑEZ, C.; VARNERO, M.T.; BUSTAMANTE, M. 2011 Residual glycerol from biodiesel manufacturing, waste or potential source of bioenergy: a review. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 71(3): 469-475.
- SVERLIJ, S.; ROS, A.; ORTI, G. 1993 Sinopsis de los datos biológicos y pesqueros del sábalo *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1847). *FAO Sinopsis sobre la Pesca*, 154: 1-64. Disponível em: < <http://www.fao.org/docrep/017/t0808s/t0808s.pdf> > Acesso em: 27 jul. 2015.
- TAVARES-DIAS, M. 2015 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. p. 20.
- UFV (UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA 2007 *SAEG 9.1: Sistema de Análises Estatística*. Viçosa: Fundação Arthur Bernardes. (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.