

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**AVALIAÇÃO DO GLICEROL EM DIETAS PARA GATOS
ADULTOS**

GERUZA SILVEIRA MACHADO

Zootecnista – UFSM

Dissertação apresentada como um dos requisitos
à obtenção do Grau de Mestre em Zootecnia
Área de Concentração Produção Animal

Porto Alegre (RS), Brasil
Março de 2014.

CIP - Catalogação na Publicação

Silveira Machado, Geruza
Avaliação do glicerol em dietas para gatos adultos
/ Geruza Silveira Machado. -- 2014.
76 f.

Orientador: Luciano Trevizan.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa
de Pós-Graduação em Zootecnia, Porto Alegre, BR-RS,
2014.

1. Nutrição de Felinos. I. Trevizan, Luciano,
orient. II. Título.

GERUZA SILVEIRA MACHADO
Zootecnista

DISSERTAÇÃO

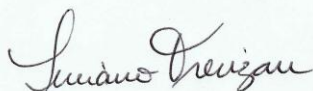
Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

MESTRA EM ZOOTECNIA

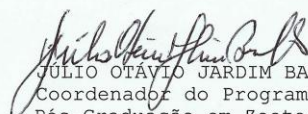
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovada em: 24.03.2014
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 13.10.2014
Por



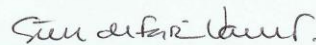
LUCIANO TREVIZAN
PPG Zootecnia/UFRGS
Orientador



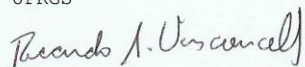
JULIO OTÁVIO JARDIM BARCELLOS
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia



ALEXANDRE DE MELLO KESSLER
PPG ZOOTECNIA/UFRGS



STELLA DE FARIA VALLE
UFRGS



RICARDO SOUZA VASCONCELLOS
UEM



PEDRO ALBERTO SELBACH
Diretor da Faculdade de Agronomia

“O menor dos felinos é uma obra de arte”

(Leonardo da Vinci)

DEDICO

Aos meus pais, Altamiro Rodrigues Machado e Maria Elizabete Silveira Machado, por todo amor, dedicação, carinho e amizade.

Ao meu filho Teodoro Machado Farina, “espero que algum dia eu consiga ser parte de sua inspiração pelos estudos”.

AGRADECIMENTOS

A DEUS por todas minhas conquistas!

Aos meus pais, pelo amor incondicional, por me apoiarem em todas as ocasiões e por não medirem esforços para tentar me proporcionar sempre o que acharam ser o melhor. Muito obrigado por todo carinho e dedicação!

A minha irmã Alessandra pela amizade eterna e por ser minha fonte de inspiração para os estudos.

Ao meu filho Teodoro por ser meu estímulo e alegria constante dos meus dias!

Ao meu amigo e companheiro, Giovani Farina, meu agradecimento pelo amor dedicado, por todo apoio e pelos momentos em que a tua dedicação me fez entender o caminho. Amo-te!

A toda minha família pelo carinho.

Aos colegas do LEZO, por todos os momentos juntos, em especial aos amigos conquistados: Alessandra, Fábio, Gabriel, Júlia, Marcelo, Patrícia Ebling e Raquel, vocês tornaram os dias mais alegres.

A todos os estagiários do LEZO, em especial a Júlia e Fernanda e aos colegas do PPG: Liege, Fábio e Manuela por todo apoio e dedicação durante a realização dos meus experimentos.

Aos alunos e técnicas laboratoriais do LNA e a professora Maitê Vieira pela ajuda com as análises laboratoriais.

Aos funcionários e professores do bloco de ensino do Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS, pelo empréstimo do gatil experimental e por toda ajuda no manejo e cuidado com os animais.

A toda equipe do LACVET da UFRGS pela colaboração com as análises bioquímicas e curvas glicêmicas, em especial a residente Juliana Matheus e a Prof^a. Stella Vale pela grande parceria.

A professora Fernanda Amorim por toda atenção e ajuda para manter a saúde dos animais.

Aos professores Alexandre Kessler e Andréa Ribeiro pelos ensinamentos diários.

A CAPES pelo auxílio financeiro.

E, finalmente, meu sincero agradecimento ao meu orientador, professor Luciano Trevizan, por toda ajuda durante os experimentos, pelos ensinamentos, paciência, amizade e por ser sempre muito prestativo e incentivador.

MUITO OBRIGADO!

AVALIAÇÃO DO GLICEROL EM DIETAS PARA GATOS ADULTOS ⁽¹⁾

Autor: Geruza Silveira Machado
Orientador: Dr. Luciano Trevizan

RESUMO

O glicerol apresenta potencial para substituir a porção energética das dietas para gatos. Por serem animais carnívoros são adaptados a dietas com alta gordura, nas quais há a presença de consideráveis concentrações de glicerol. Foram conduzidos três experimentos com o objetivo de avaliar a palatabilidade, o coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) dos componentes, da energia bruta (EB), características fecais, volume urinário e curva glicêmica dos gatos adultos alimentados com dietas contendo glicerol (GLY). No experimento 1 foi realizado o teste de palatabilidade que avaliou níveis de 5% e 10% de glicerina bi-distilada de alta pureza (99,5% glicerol) fonte do glicerol, adicionado por cobertura em substituição à dieta. Foram avaliadas a primeira escolha e a relação de consumo (RC) das dietas pelo método de livre escolha com três comparações: GLY0 vs GLY5; GLY0 vs GLY10 e GLY5 vs GLY10. O experimento 2 foi composto pelo teste de digestibilidade e o experimento 3 pela curva glicêmica, em ambos experimentos foram avaliados os níveis de inclusão de 2,5%, 5% e 10% de GLY à dieta. Os resultados do experimento 1 indicaram que os gatos não demonstraram preferência por uma dieta, já que na primeira escolha não foi verificada diferenças significativas) no teste realizado ($P > 0,05$). O consumo das dietas revela que os animais consumiram proporcionalmente mais a dieta sem adição de glicerol em relação às demais. Porém quando comparados os níveis 5 e 10% os gatos preferiram a dieta com maior acréscimo GLY10% ($P < 0,05$). No experimento 2, foi observado que o aumento do GLY na dieta não alterou o consumo de alimento, os CDA dos componentes e da EB ($P < 0,05$). A ED do GLY foi de 2.450kcal/kg e o CDA foi de 0.56. A inclusão do glicerol nas dietas não alterou o conteúdo de água nas fezes, escore fecal e volume de urina dos animais, porém a excreção de glicerol pela urina foi aumentada quando houve incorporação de 10% de glicerol na dieta. No experimento 3, o consumo do alimento elevou a glicemia pós prandial dos animais até 900 minutos após a primeira ingestão de alimento sem diferença entre os tratamentos, mesmo quando as médias foram ajustadas para consumo de alimento (g). A medida da área baixo da curva também não apresentou diferença significativa ($P = 0,44$) nem mesmo quando os resultados foram descontados da área abaixo da curva da glicemia basal ($P = 0,97$). O glicerol, nestas condições do estudo, possui valor nutricional satisfatório para gatos, embora a preferência alimentar tenha sido reduzida com a inclusão do ingrediente na dieta. Mais estudos devem ser realizados, levando em consideração a forma de inclusão do ingrediente na dieta.

⁽¹⁾ Dissertação de Mestrado em Zootecnia – Produção Animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (76 p.), março de 2014.

ASSESSMENT OF GLYCEROL IN DIETS FOR ADULT CATS ⁽¹⁾

Author: Geruza Silveira Machado⁽¹⁾

Advisor: Dr. Luciano Trevizan

ABSTRACT

Glycerol has the potential to replace the energy portion of the diets for cats. Because they are carnivorous animals are adapted to diets with high fat, where there is the presence of considerable amounts of glycerol. Three experiments to evaluate the palatability, the apparent digestibility coefficient (ADC) of the components of gross energy (GE), stool characteristics, urine volume and glycemic index of adult cats fed diets containing glycerol (GLY) were conducted. In experiment 1 the palatability test that assessed levels of 5% and 10% double distilled glycerin high purity (99.5% glycerol) source glycerol added coverage by replacing the diet was conducted. The first choice and the consumption ratio (CR) diets by the method of free choice were evaluated with three comparisons: GLY0 vs GLY5; GLY0 vs GLY10 and GLY5 vs GLY10. Experiment 2 was composed of the digestibility test and experiment 3 the glycemic index, in both experiments the inclusion levels of 2.5%, 5% and 10% of the GLY diet were evaluated. The results of Experiment 1 indicate that cats showed no preference for a diet, since the first choice was not observed significant differences) in the test performed ($P > 0.05$). The consumption of diets shows that proportionally more animals consumed the diet without glycerol in relation to others. But when comparing the levels 5 and 10% preferred the cats fed the highest GLY10% increase ($P < 0.05$). In experiment 2, we observed that the increase in GLY in the diet did not affect feed intake, CDA and Components EB ($P < 0.05$). The ED GLY was 2.450kcal/kg and CDA was 0.56. The inclusion of glycerol in the diets did not affect the water content in the feces and fecal score of animal urine volume, but glycerol excretion in urine was increased when there was incorporated a 10% glycerol in the diet. In experiment 3, the consumption of food increased the postprandial glucose levels up to 900 minutes after the first intake of food with no difference between treatments, even when the means were adjusted for feed intake (g). The measure of area under the curve also showed no significant difference ($P = 0.44$) even when the results were discounted from the area under the curve of basal glucose levels ($P = 0.97$). Glycerol, in these conditions of the study, cats own suitable for nutritional value, while feeding preference has been reduced with the inclusion of the ingredient in the diet. More studies should be conducted, taking the form of inclusion of the ingredient in the diet into consideration.

⁽¹⁾ Masters dissertation in Animal Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil, (76p.), march, 2014.

SUMÁRIO

Capítulo I	Página
1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
2.1. Mercado <i>pet food</i> brasileiro	19
2.2. Glicerina e biocombustíveis.....	19
2.2.1. Glicerol.....	22
2.3. A alimentação de felinos e a utilização do glicerol	26
3. HIPÓTESES E OBJETIVOS	29
Capítulo II	
Avaliação do glicerol em dietas para gatos adultos	33
2. Material e Métodos.....	36
2.1 Animais e alojamento	36
2.2. Experimento 1. Testes de palatabilidade.....	37
2.2.1. Dietas.....	37
2.3. Experimento 2: Digestibilidade	38
2.3.1. Dietas.....	38
2.3.2 Manejo e desenho experimental	38
2.3.3 Coletas de amostras e Análises laboratoriais	39
2.4 Experimento 3: Curva Glicêmica	40
2.4.1. Dietas.....	40
2.4.2. Manejo e desenho experimental	40
2.4.3 Colheitas de amostras e Análises laboratoriais	41
2.5 Análises estatísticas	42
2.5.1 Palatabilidade	42
2.5.2 Digestibilidade.....	42
2.5.3 Curva glicêmica	42
3. Resultados	43
3.1. Palatabilidade	43
3.2. Digestibilidade	43
3.3. Curva Glicêmica	44
4. Discussão.....	45

5. Conclusão	51
6. Referências Bibliográficas.....	56

Capítulo III

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	61
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
7. APÊNDICES	69

RELAÇÃO DE TABELAS

Capítulo II	Página
TABELA 01: Composições das dietas dos testes de palatabilidade, digestibilidade e curva glicêmica.....	50
TABELA 02: Primeira escolha e relação de consumo entre as dietas testadas duas a duas com diferentes níveis de inclusão de glicerol (0%, 5% e 10%) em diferentes formas de inclusão: na mistura e por cobertura da dieta.....	51
TABELA 03: Consumo de nutrientes, coeficiente de digestibilidade, excreção de glicerol e características fecais e urinárias de gatos alimentados com dietas contendo diferentes níveis de glicerol.....	52
TABELA 04: Consumo Médio Total (CTM), Área Abaixo da Curva (AAC), Área da Diferença Abaixo da Curva (ADAC), Concentração Basal Média de Glicose (CBM), Concentração Glicêmica Média (CGM), tempo e valor do pico glicêmico em gatos alimentados com níveis de 0 a 10% de glicerol em substituição a dieta basal durante 900 minutos.....	54

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
Capítulo I	
FIGURA 01: Fluxograma da produção de biodiesel e a formação do resíduo de interesse na nutrição animal – a glicerina destilada.....	20
FIGURA 02: Metabolismo hepático do glicerol em função do estado alimentar.....	22
Capítulo II	
FIGURA 01: Médias de glicose sérica (mg/dL) e médias dos consumos de alimentos (g) dos gatos alimentados com dietas contendo níveis de inclusão de glicerol (GLY0%, GLY2,5%, GLY 5% e GLY10%) de 0 a 900 minutos após alimentação.....	53

RELAÇÃO DE ABREVIATURAS E DE SÍMBOLOS

- AAC** = Área Abaixo da Curva
AAFCO = American Association of Feed Control Officials
ABINPET = Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação
ADAC = Área da Diferença Abaixo da Curva
ANP = Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
AOAC = Official Methods of Analysis
AQP7 = Aquagliceroporina
ATP = Adenosina Trifosfato
CD = Coeficiente de Digestibilidade
CDA = Coeficiente de Digestibilidade Aparente
CGM = Concentração Glicêmica Média
CHOS = Carboidratos
CNPE = Conselho Nacional de Política Energética
CTM = Consumo Total Médio
DOU = Diário Oficial da União
EB = Energia Bruta
ED = Energia Digestível
EM = Energia Metabolizável
Eman = Energia Metabolizável Aparente Corrigida para o Balanço de Nitrogênio
EUROMONITOR = Empresa de Pesquisa em Estratégia para Mercados Consumidores
FAO = Food And Agriculture Organization Of The United Nations
FELV = Vírus da Leucemia Viral Felina
FIV = Vírus da Imunodeficiência Felina
G3P = Glicerol-3-Fosfato
GLY = Glicerol
GRAS = Generally Recognized as Safe
IUPAC = International Union of Pure And Applied Chemistry
MAPA = Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MS = Matéria Seca
NRC = National Research Council
PCR = Reação em Cadeia da Polimerase
RC = Relação de Consumo
SEBRAE = Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

A produção dos biocombustíveis, mais precisamente o biodiesel, gera resíduos durante o processo de produção. O principal resíduo deste processo é a glicerina, produzida durante a transesterificação das gorduras com um álcool, neste caso o metanol.

A Lei nº 11.097, publicada em 13 de janeiro de 2005, introduziu o biodiesel na matriz energética brasileira e ampliou a competência administrativa a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP). A partir da metade do ano de 2008 a meta brasileira para a inclusão de biodiesel ao diesel foi fixada em no mínimo 5% (BRASIL, 2005). Para atender a esta inclusão são necessários aproximadamente 2,6 milhões de toneladas do biocombustível por ano, montante capaz de gerar quase 300 mil toneladas de glicerina. Atualmente, o Brasil está produzindo nas 64 indústrias de biodiesel autorizadas pela ANP, 21.957,79 m³/dia. O biocombustível é rapidamente colocado no mercado, mas a glicerina excedente do processo ainda não possui destino concreto (Santos, 2011). O aproveitamento deste resíduo é importante para viabilizar a cadeia de produção dos biocombustíveis tornando-a sustentável e economicamente viável.

A glicerina é composta principalmente por glicerol e as concentrações variam de 60 a quase 100%, dependendo do estado de purificação da glicerina. Para a produção de concentrados com 99% de pureza de glicerol é necessário efetuar dois processos: destilação e descoloração (Yong et al., 2001).

A produção de biocombustíveis pode ser considerada a maior fonte produtora deste componente que tem sido reconhecido pela American Association of Feed Control Officials (AAFCO), (2008) como uma substância geralmente segura em alimentos para animais (GRAS – Generally Recognized as Safe). O Food and Drug Administration (FDA) estabeleceu níveis máximos de metanol de 150 ppm para a glicerina utilizada na alimentação animal. Inclusive, o uso para consumo humano é permitido em alimentos enlatados (Morrison, 1994). A presença do metanol é um limitante ao uso da glicerina. No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), pela resolução de nº 386, de 5 de Agosto de 1999, autorizou a utilização de glicerina na alimentação animal, desde que sejam atendidos alguns parâmetros: glicerol mínimo (80%), umidade máxima (12%), metanol máximo (150ppm), sódio e matéria mineral máximos especificados para cada espécie.

O glicerol é um nutriente encontrado naturalmente em vários ingredientes a partir de diferentes fontes, animal e vegetal. Nas dietas caseiras ou mesmo em dietas comerciais o glicerol é normalmente consumido pelos animais pois é componente natural dos triglicerídeos que compõem a maior parte das gorduras consumidas, independente da origem. Durante a digestão, os triglicerídeos são hidrolisados pela lipase pancreática para formar ácidos graxos livres e glicerol, sendo este solúvel em água e facilmente absorvido pelo estômago e intestino delgado. Todas as espécies de mamíferos são capazes de utilizar o glicerol. Por ser um componente de três carbonos participa das rotas gliconeogênicas, capaz de gerar energia disponível, rapidamente. Gatos são animais carnívoros estritos e por conta de seu hábito alimentar consomem

normalmente elevados níveis de glicerol, fator favorável à incorporação deste ingrediente em dietas para esta espécie.

Alguns estudos demonstraram o uso da glicerina na alimentação animal, como ingrediente energético para diferentes espécies: suínos, coelhos, frangos, ruminantes e cães (Simon *et al.*, 1996; Cerrate *et al.*, 2006; Lammers *et al.*, 2008; Retore, 2010; Lage *et al.*, 2010; Porciano Neto *et al.*, 2011). Dentro das espécies testadas houve boa aceitação do glicerol como ingrediente alimentar em doses de até 10% da dieta. No entanto, Tyson *et al.* (2004) salientaram que o sal e as impurezas nos óleos reciclados e os reagentes usados na transesterificação, como o metanol, são os principais problemas da glicerina oriunda do biodiesel, pois podem limitar o consumo ou a inclusão nas dietas. Na alimentação de gatos nenhum estudo foi encontrado.

O uso do glicerol em dietas para felinos pode ser interessante quando utilizado para reduzir a inclusão de carboidratos e em dietas terapêuticas. Os felinos têm atividade muito baixa da enzima glicoquinase e habilidade limitada de metabolizar grandes quantidades de carboidratos simples (Kirk *et al.*, 2000), que são considerados nutrientes não essenciais, já que suas necessidades de glicose são supridas por precursores (aminoácidos e glicerol) provenientes da dieta (Agar, 2007).

Atualmente a maior parte dos alimentos produzidos para animais de companhia são processados mediante o processo de extrusão o qual permite a formação de biscoitos crocantes, palatáveis e com maior digestibilidade dos nutrientes. O processo de extrusão de alimentos é dependente da presença de amido e as dietas extrusadas para gatos, seguem o mesmo pressuposto ainda que estes animais sejam considerados carnívoros estritos. Eliminar completamente os carboidratos nas dietas para gatos ainda não é possível, mas reduzir as concentrações até níveis mínimos que permitam a extrusão pode ser considerado, uma vez que outro nutriente substitua a retirada do carboidrato da dieta. Em frente a este cenário foi realizado um estudo para verificar o efeito do glicerol em substituição a uma dieta tradicional extrusada e seus efeitos sobre a palatabilidade, digestibilidade dos nutrientes e curva glicêmica, já que os efeitos do acréscimo de glicerol não associado ao triglicerídeo, especialmente em dietas para gatos, ainda não eram conhecidos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Mercado *pet food* brasileiro

O mercado brasileiro de produtos para animais de estimação apresentou crescimento constante nos últimos anos. O setor é formado pelos segmentos de *Pet Food* (alimentação), *Pet Care* (equipamentos, acessórios e produtos para higiene e beleza), *Pet Vet* (medicamentos veterinários) e *Pet Serv* (serviços e cuidados). Mas é o setor de *Pet Food* a maior fonte da receita, ocupando 68,5% do faturamento (ABINPET, 2013). Segundo dados do último boletim do SINDIRAÇÕES (2013), até setembro a produção de alimentos para cães e gatos cresceu 5,1%, superando as 1,9 milhão de toneladas do ano anterior, o que demonstra o imenso potencial do setor de alimentação de animais de companhia brasileiro.

Os dados do EUROMONITOR (Empresa de Pesquisa em Estratégia para Mercados Consumidores) apurados pela Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação (ABINPET, 2013), mostra que a população de animais de estimação em todo o mundo chegou a 1,51 bilhões. O Brasil é o quarto país no quadro geral desde 2008, com 106,2 milhões de animais de estimação, estando atrás dos Estados Unidos (224,3 mi), Reino Unido (148,3 mi) e China. No entanto, está em segundo lugar quando se trata de cães e gatos (37,1 milhões e 21,3 milhões, respectivamente), somente atrás dos Estados Unidos. No Brasil, apesar do crescimento do número cães como animais de estimação, o aumento dos gatos é maior, com uma alta de 8,19% em relação a 2011. A estatística reflete a procura por esta espécie de animal nas metrópoles, onde a vida em apartamentos poderá demandar animais menores e mais independentes, características típicas dos felinos (ABINPET, 2013).

2.2. Glicerina e biocombustíveis

Existem dois principais biocombustíveis líquidos usados no Brasil: o etanol extraído de cana-de-açúcar e o biodiesel produzido a partir de óleos vegetais ou de gorduras animais, sendo incorporados ao diesel de petróleo em diferentes proporções. Aproximadamente 45% da energia e 18% dos combustíveis consumidos no Brasil já são renováveis. No resto do mundo, 86% da energia vêm de fontes energéticas não renováveis (ANP, 2013).

O biodiesel tornou-se uma alternativa energética e oferece vantagens por colaborar com a conservação do meio ambiente, reduzindo a emissão de gases do efeito estufa. A combustão não provoca emissão de óxidos de enxofre (SO₂ e SO₃), poluentes prejudiciais à qualidade do ar e responsáveis pela chuva ácida (Mota et al., 2009). A queima de biodiesel pode emitir, em média, 48% menos monóxido de carbono, 47% menos material particulado, que causa efeitos negativos sobre o sistema respiratório, e 67% menos hidrocarbonetos (ANP, 2013).

Desde 1º de janeiro de 2010, o óleo diesel comercializado em todo o Brasil contém 5% de biodiesel. Esta regra foi estabelecida pela Resolução nº 6/2009 do Conselho Nacional de Política Energética (CNPE), publicada no Diário Oficial da União (DOU) em 26 de outubro de 2009, que aumentou de 4% para 5% o percentual obrigatório de mistura de biodiesel ao óleo diesel (ANP,

2013).

O Brasil está entre os maiores produtores e consumidores de biodiesel do mundo, com uma produção anual, em 2012, de 2.717.483 m³ (ANP, 2013). Apesar de ser uma fonte alternativa de energia, a produção do biodiesel gera resíduo, sendo a glicerina responsável por aproximadamente, 10% do volume total do biodiesel produzido (Dasari et al., 2005). Esse excedente ainda não é totalmente utilizado não possuindo destino concreto (Santos, 2011). Porém, o aproveitamento deste resíduo é importante para viabilizar a cadeia de produção dos biocombustíveis tornando-a sustentável e economicamente viável. A aplicação destes coprodutos na indústria de alimentação animal representa mais uma forma de consumo do excedente e ao mesmo tempo possibilita aumentar as opções de ingredientes para formulações com a possibilidade de reduzir custos (Vasconcellos, 2010).

Atualmente, a principal forma de obter o biodiesel é a transesterificação (ou alcoólise) alcalina homogênea de óleos e gorduras. Na transesterificação, o óleo ou gordura, que são compostos basicamente de tri-ésteres da glicerina com ácidos graxos, é misturado ao metanol ou etanol e, na presença de um catalisador, gera uma mistura de ésteres metílicos ou etílicos de ácidos graxos e glicerina. Essa mistura de ésteres metílicos ou etílicos é o que hoje se conhece como biodiesel (Suarez et al., 2009) restando a glicerina (Figura 1).

No entanto, para que a glicerina possa ser utilizada como um ingrediente ela precisa ser purificada. Durante a reação de transesterificação, a ação enzimática (álcool-desidrogenase) oxida o metanol resultando em formaldeído desidrogenase e em seguida, dependendo do pH é transformado em ácido fórmico ou formato, sendo um composto tóxico (Menten et al., 2008). Assim a glicerina precisa passar por um processo de destilação para a retirada do álcool e após, tratamento ácido para retirada dos sais do catalisador (Figura 1).

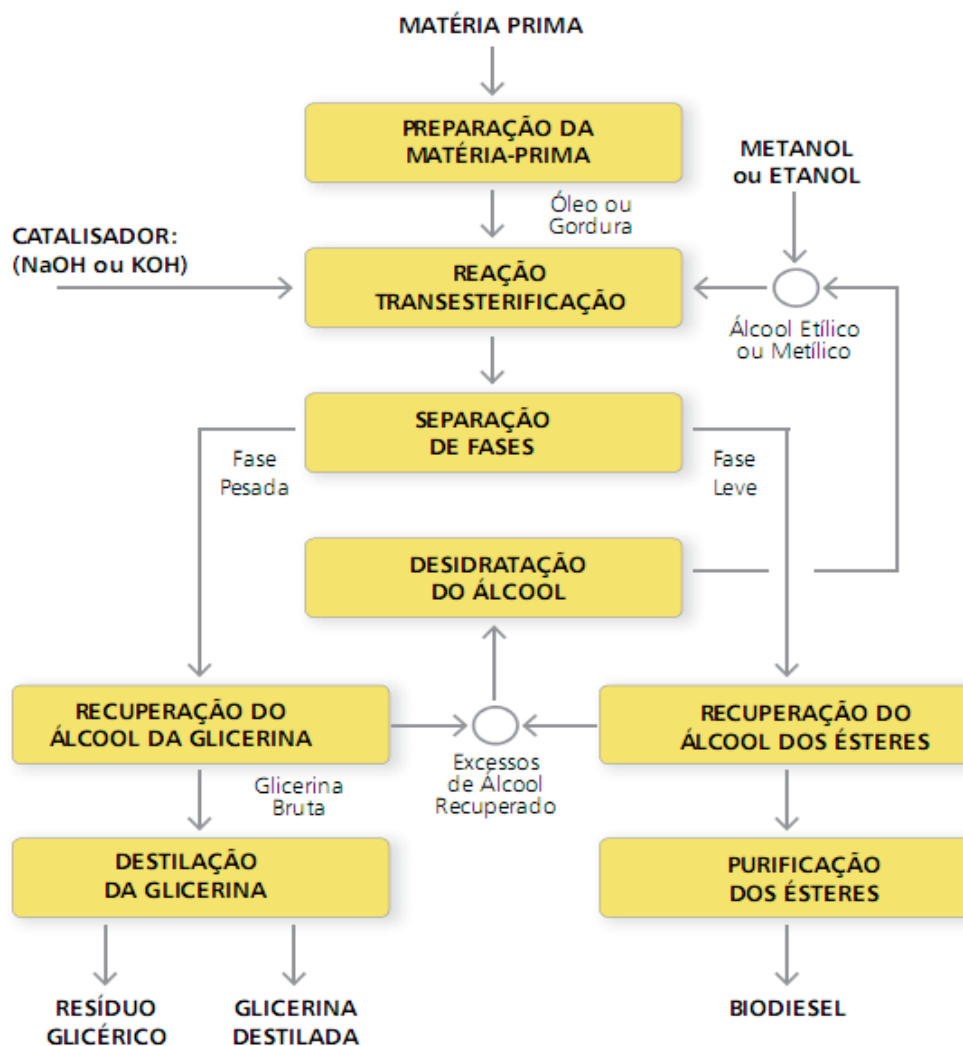


Figura 1. Fluxograma da produção de Biodiesel e a formação do resíduo de interesse na nutrição animal – a glicerina destilada.

Fonte: Manual do Biodiesel/SEBRAE (2007)

No Brasil as empresas produtoras de biodiesel utilizam como principal catalisador da reação de transesterificação o hidróxido de sódio (Arruda et al. 2007). Após esse processo é obtido um produto purificado que pode ser utilizado na alimentação humana e animal. A glicerina pode apresentar teores variáveis de glicerol, água, metanol e ácidos graxos. As glicerinas diferenciam-se pelo grau do processamento industrial, o qual pode ser tanto na forma bruta (alto conteúdo de ácidos graxos) quanto na forma semipurificada (baixo conteúdo de ácidos graxos). Podem ser produzidas através de fontes vegetais, animais ou pela associação de ambas (mista). Para obtenção da glicerina pura (acima de 99% de glicerol), é necessário processo de destilação e descoloração (Yong *et al.*, 2001). O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), em maio de 2010, autorizou o uso da glicerina como insumo na alimentação animal, desde que atenda os seguintes requisitos: valor mínimo de 800g glicerol/kg, máximo de 130 g/kg de água e

máximo 159 mg/kg de metanol (Paule, 2010). A presença significativa de sódio na glicerina é variável sendo um fator limitante para sua utilização nas rações (Tyson et al., 2004).

Vários estudos têm demonstrado os efeitos da utilização do glicerol residual como fonte energética em rações de diferentes espécies animais (Simon *et al.*, 1996; Cerrate *et al.*, 2006; Lammers *et al.*, 2008; Berenchtein, et al., 2010; Retore, 2010;. Lage *et al.*, 2010; Ponciano Neto, 2011; Gaudré et al., 2012). No entanto, em dietas para gatos ainda não há histórico dos efeitos da glicerina quando incorporada a dieta.

2.2.1. Glicerol

O termo glicerina purificada ou bi-destilada refere-se ao glicerol na forma comercial com pureza acima de 95%, sendo também conhecido como 1, 2, 3 propanotriol (IUPAC, 1993).

O glicerol é uma molécula de baixo peso molecular que desempenha um papel vital, sendo um importante componente estrutural dos triglicerídeos e fosfolipídios. Além disso, o glicerol é precursor do gliceraldeído 3 – fosfato (G3P), um intermediário na lipogênese e na via gliconeogênica, produzindo energia através das vias glicolíticas e do ácido tricarbóxico (Lin, 1977; Tao et al., 1983). É um composto orgânico pertencente à função química álcool, sendo líquido à temperatura ambiente (25°C), higroscópico, inodoro, viscoso e possui sabor adocicado. Sua temperatura de fusão é de 17,8°C e é volatilizado a 290°C, sendo miscível em água e álcool (Perry & Green, 1997; Pachauri & He, 2006).

De acordo com Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO (2011), o glicerol é reconhecido como aditivo pertencente à classe dos umectantes e espessantes e tem sua inclusão permitida em dietas para diferentes espécies animais.

2.2.1.1. Glicerol e o Metabolismo

O glicerol participa do metabolismo normal dos animais, sendo encontrado nas células e na circulação sanguínea. Ele é derivado da lipólise no tecido adiposo, da hidrólise dos triglicerídeos e das lipoproteínas do sangue e da gordura dietética (Lin, 1977). A literatura carece de mais informações sobre transtornos metabólicos da suplementação exógena de glicerol na dieta de gatos, especialmente quando esta suplementação substitui a porção energética das rações.

Após ingestão, o glicerol é absorvido pelo estômago e intestino delgado, por ser solúvel segue via porta para ser metabolizado no fígado podendo ainda ser metabolizado nos rins. A quantidade de glicose gerada depende do estado metabólico e do nível de glicerol consumido. Quando a digestão do glicerol é total, são obtidas três moléculas de ácidos graxos e uma molécula de glicerol. Esta última molécula, por seu baixo peso molecular, é facilmente absorvida por difusão ao longo do trato gastrintestinal. Uma vez absorvido, o glicerol pode ser convertido em glicose, via gliconeogênese, ou oxidado para a produção de energia, via glicólise e ciclo de Krebs (Robergs & Griffin, 1998).

O glicerol pode ser considerado uma fonte adequada de energia,

pois quando as gorduras são digeridas, normalmente são obtidas duas moléculas de ácidos graxos e uma molécula de monoglicerídeo.

O glicerol age como precursor na síntese de triglicerídeos e fosfolipídios, no fígado e no tecido adiposo, sendo liberado do catabolismo do triacilglicerol, convertido à glicose via fosforilação do G3P e catalisado pela glicerol-quinase. No metabolismo celular o G3P é um metabólito central e possui triplo papel: fornecer o esqueleto de carbono para a gliconeogênese, carregador de equivalentes redutores do citosol para a mitocôndria para fosforilação oxidativa e agir como estrutura de lipídeos glicerídeos.

Em mamíferos, existem três enzimas responsáveis pelo metabolismo do glicerol e G3P, a glicerol-quinase, o citosol NAD⁺ - dependente G3P desidrogenase e o FAD mitocondrial ligado a G3P desidrogenase (Lin, 1977).

A partir desse ponto, participa da gliconeogênese (fornecendo o esqueleto de carbono), ou é oxidado via ciclo de Krebs (para a transferência de equivalentes redutores do citosol para a mitocôndria, com geração de 22 ATP) promovendo energia prontamente disponível (Figura 2). Ainda, pode servir como precursor da síntese de triglicerídeos, como constituinte da molécula (Mourot et al., 1994; Best, 2006, Menten et al., 2008).

De acordo com Lin (1977), o glicerol é bem absorvido no intestino de ratos, porém menos rapidamente do que a glicose. Segundo o mesmo autor, o fígado é responsável por, aproximadamente, 3/4 da capacidade total de metabolizar o glicerol, já que a gliconeogênese ocorre no fígado. O rim é responsável por cerca de 1/5 desta capacidade de metabolização e também pela essencial reabsorção do glicerol, evitando excessos de perdas na urina. Quando é excedida a capacidade dos rins em reabsorver o glicerol, haverá excreção deste na urina (Koolman & Röhm, 2005).

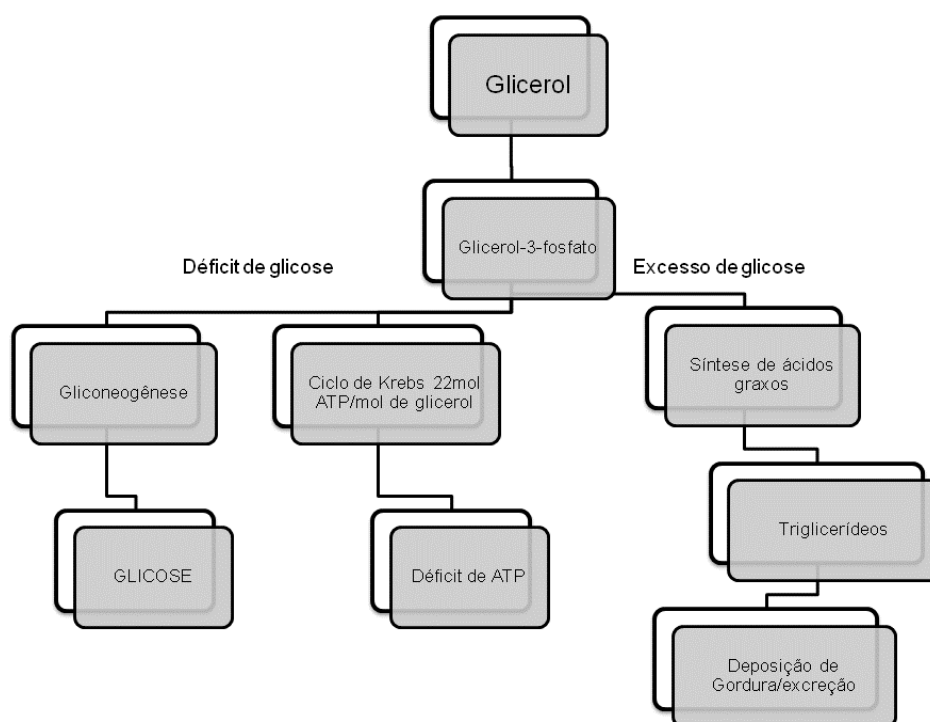


Figura 2. Metabolismo hepático do glicerol em função do estado alimentar

Fonte Adaptado de Best (2006)

De acordo com Lin (1977), o glicerol é bem absorvido no intestino de ratos, porém menos rapidamente do que a glicose. Segundo o mesmo autor, o fígado é responsável por, aproximadamente, 3/4 da capacidade total de metabolizar o glicerol, já que a gliconeogênese ocorre no fígado. O rim é responsável por cerca de 1/5 desta capacidade de metabolização e também pela essencial reabsorção do glicerol, evitando excessos de perdas na urina. Quando é excedida a capacidade dos rins em reabsorver o glicerol, haverá excreção deste na urina (Koolman & Röhm, 2005).

Durante um jejum prolongado, os rins tornam-se importantes órgãos produtores de glicose (Champe & Harvey, 1996). O rim produz glicose principalmente a partir de aminoácidos, no entanto, somente parte dela é liberada para o sangue, pois este órgão necessita de glicose para executar suas funções.

No metabolismo celular o G3P é um metabólito central e possui triplo papel: fornecer o esqueleto de carbono para a gliconeogênese, carregador de equivalentes redutores do citosol para a mitocôndria para fosforilação oxidativa e agir como estrutura de lipídeos glicerídeos.

Em mamíferos, existem três enzimas responsáveis pelo metabolismo do glicerol e G3P, a glicerol-quinase, o citosol NAD⁺ - dependente G3P desidrogenase e o FAD mitocondrial ligado a G3P desidrogenase (Lin, 1977).

O glicerol é disponibilizado, primeiramente, na lipólise nos tecidos adiposos e, a partir da hidrólise dos triglicerídeos nas lipoproteínas no sangue (Lin, 1977). Durante a lipólise, os triglicerídeos são hidrolisados pelos adipócitos para formar sequencialmente diacilglicerol, em seguida, monoacilglicerol, sendo este hidrolisado, na etapa final, para uma rápida liberação de um ácido graxo e glicerol na circulação. Neste momento, uma proteína transportadora de membrana encontrada no citoplasma dos adipócitos, conhecida como aquagliceroporina (AQP7) e pode funcionar como um canal de liberação do glicerol do tecido adiposo. Estudos verificaram que ratos deficientes na AQP7 tiveram reduzida liberação do glicerol e apresentaram severa hipoglicemia em jejum induzido (Maeda et al., 2004).

A metabolização crônica do glicerol no fígado de ratos e aves tem um efeito estimulador sobre a síntese de ácidos graxos livres, triglicerídeos, colesterol, quilomícrons e das lipoproteínas plasmáticas (Narayan & McMullen, 1979), além de elevar os níveis de colesterol e triglicerídeos no tecido hepático, o que propicia o aumento do peso deste órgão (Narayan & McMullen, 1979; Rosebrough et al., 1980). De acordo com Lin et al. (1976), houve efeito do glicerol nas enzimas lipogênicas no fígado de ratos alimentados com dietas com alto teor de glicerol proporcionando elevada atividade hepática da piruvato-quinase, glicose-6-fosfato desidrogenase, enzima málica, enzima de clivagem do citrato e acetil Coa. As trioses formadas a partir de glicerol são direcionadas para formação de glicose.

2.2.1.2. Glicerol na alimentação animal

O glicerol, coproduto da produção de biodiesel, é uma alternativa

energética viável para às dietas de animais de produção. Entretanto, a sua variabilidade e o desconhecimento que os nutricionistas têm quanto ao seu uso, tem limitado a sua inclusão às dietas (Gianfelici, 2009).

Resultados de pesquisas indicam que o uso de glicerina proveniente da produção de biodiesel tem uma aplicação segura quando incluída na formulação de rações para aves e suínos até cerca de 10%, não afetando o desempenho, a saúde, a qualidade da carcaça e da carne dos animais. Groesbeck et al. (2008), testando níveis de 3, 6 e 12% de glicerina bruta em dietas para leitões na fase de creche, obtiveram aumento no consumo de ração. Os autores recomendam a inclusão de até 12% de glicerina em dietas para leitões. O glicerol proporcionou melhora na palatabilidade da dieta provavelmente pelo seu sabor adocicado atuando de maneira positiva no desempenho dos animais e melhorando as propriedades físicas de dietas peletizadas. Lammers et al. (2007), incluindo 5 e 10% de glicerina bruta na dieta de leitões na mesma fase, não observaram qualquer efeito no desempenho dos animais.

Lammers et al. (2008b), avaliando a utilização de glicerina (86,95% de glicerol e 3625 kcal/kg) para dietas de suínos em crescimento, encontraram valores para a digestibilidade da energia coeficientes entre 89 e 92%.

Em suínos, existe uma limitação na ativação de enzimas para utilização de glicerol. Altos níveis de inclusão de glicerina na alimentação proporcionam baixo conteúdo energético, pois o sistema enzimático (glicerol-quinase) torna-se saturado na conversão do glicerol para glicerol-3-fosfato, sendo o glicerol em excesso excretado pela urina (Doppenberg & Van Der Aar, 2007). Casa (2008) ao realizar um experimento com suínos em crescimento observou que o desempenho dos animais alimentados com 5% de glicerol não diferiu dos controles, enquanto aqueles alimentados com 10% de glicerol apresentaram consumo alimentar e crescimento reduzido.

Em aves, o glicerol é um ótimo substrato para gliconeogênese em razão da atividade da glicerol-quinase no fígado. Nesta espécie ocorre um efeito do glicerol na síntese de ácidos graxos, sendo semelhante ao efeito do 1,3-butanodiol, ou seja, no fígado aumenta a relação do NADH/NAD citoplasmático (Lin et al. 1976). Além disso, o glicerol pode aumentar a deposição de proteína, por causa da redução da gliconeogênese a partir de aminoácidos, através da inibição da atividade da fosfoenolpiruvato carboxiquinase ou glutamato desidrogenase (Simon et al., 1997). Resultados obtidos por Cerrate et al. (2006) demonstraram que o rendimento de peito em porcentagem da carcaça foi significativamente maior para as aves alimentadas com dietas contendo 2,5 ou 5% de glicerina, em comparação com aquelas alimentadas com dieta sem glicerina.

A utilização da glicerina na dieta de frangos de corte se deve ao alto valor energético, uma vez que os valores de energia metabolizável determinados para a glicerina (86% glicerol) em três experimentos com frangos de diferentes idades (4 a 11 dias, 17 a 24 dias e 38 a 45 dias) realizados por Dozier et al. (2008), os valores de Energia Metabolizável Aparente corrigida pelo balanço de Nitrogênio (EMAn) foram de 3.621, 3.331 e 3.349 kcal/kg, respectivamente, valores semelhantes ao do milho, por exemplo (3381 kcal/kg) (Rostagno et al., 2005). Na mesma linha, Abd-Elasamee et al. (2010), testando

os níveis de 0, 2, 4, 6 e 8% de glicerina (84,65% de glicerol) nas rações de frangos de corte, concluíram que a glicerina pode ser utilizada até o nível de 8% sem afetar o desempenho, digestibilidade dos nutrientes e as características de carcaça.

Em outro estudo com galinhas poedeiras, foram formuladas quatro dietas experimentais com níveis de 0, 5, 10, e 15% de glicerina semi-purificada (87% de glicerol) que foram substituídas por níveis iguais de glicose (3.640 kcal/kg de EMAn). Neste estudo foi observado aumento linear na EMAn à medida que aumentou a inclusão de glicerina bruta em relação à quantidade de glicose, sendo estimado valor de EMAn de 3.805 kcal/kg e coeficiente de metabolizabilidade de 105% para poedeira (Lammers et al. 2008a).

Retore (2010) realizou um ensaio de desempenho com 180 coelhos de 32 dias, foram testados níveis de 0, 3, 6, 9 e 12% de glicerina bruta vegetal (55% glicerol) e glicerina bruta mista (68% glicerol), sendo encontrada energia digestível de 5.099 e 4.953 kcal, respectivamente. A inclusão de até 12% de glicerina bruta mista permitiu desempenho dos animais, até os 50 dias de idade, semelhante ao da dieta testemunha, ao contrário da glicerina bruta vegetal em que inclusões superiores a 6% na dieta resultaram em pior desempenho em relação aos obtidos com a dieta testemunha. No período total do experimento, não foram observadas diferenças no peso vivo e ganho de peso diário dos animais alimentados com ambas as glicerinhas.

Pereira & Furuya (2010), em um experimento com 40 tilápias do Nilo, avaliaram três diferentes gliceróis: glicerol de bruto óleo vegetal, glicerol semi-purificado misto e glicerol semi-purificado vegetal cada dieta era composta com a inclusão de 20% do glicerol teste e 80% da dieta basal. Os valores de energia digestível foram de 3058, 2610, 1754kcal/kg, respectivamente, concluindo que os valores de energia digestível foram diretamente afetado pela pureza do glicerol utilizado.

Estudos com animais carnívoros são poucos. Ponciano Neto (2011) estudou a inclusão da glicerina bruta (68% glicerol) incluída em substituição à matéria seca da dieta com níveis de 2,5; 5,0; 7,5 e 10% e encontrou o valor de energia metabolizável da glicerina de 5.381 kcal/kg e coeficiente de metabolização da energia bruta de 97,8%, demonstrando um excelente aproveitamento da energia a partir da glicerina utilizada. Este experimento trouxe evidências de que carnívoros aceitam a glicerina e que a metabolização é eficiente, indício importante para inclusão da glicerina em dietas para gatos.

2.3. A alimentação de felinos e a utilização do glicerol

Os gatos fazem parte da superfamília *Feloidea* e são considerados carnívoros estritos. A fisiologia, anatomia, metabolismo e adaptação comportamental particular dos gatos evidenciam sua exigência por uma dieta estritamente carnívora (Kirk et al., 2000). Estes animais desenvolveram estratégias específicas para metabolizar proteínas, aminoácidos, gorduras e vitaminas durante o processo evolutivo. A habilidade dos carnívoros está sediada na capacidade de digerir, absorver e metabolizar proteínas e gorduras, principais nutrientes fornecidos através de uma dieta baseada em carnes e vísceras e gerar glicose através destes nutrientes. Os felinos possuem metabolismo único para glicose, consomem pequenas quantidades deste

nutriente em uma dieta natural sendo que a fonte de energia é provida por aminoácidos e glicerol. São animais que desenvolveram habilidades para produzir e economizar glicose e reduzir a sua oxidação para produção de energia nos tecidos, além da transformação em glicogênio ou em reservas de gordura (Saad e Ferreira, 2004).

Felinos alimentados costumam obter como precursor da glicose os aminoácidos, mas em períodos de subnutrição o glicerol contribui relevantemente para produção de energia estimulada pela ação de hormônios como o glucagon e a epinefrina. No jejum estima-se que de 20 a 30% da glicose seja derivada do glicerol. Níveis altos de ácidos graxos livres no sangue inibem a formação de glicose a partir do glicerol (Saad e Ferreira, 2004). Os felinos domésticos não necessitam de CHOS na alimentação para regular a glicemia, pois tem a capacidade de sintetizar glicose a partir de aminoácidos e glicerol (Agar, 2007). Porém, Carciofi (2008), relata que os ingredientes amiláceos processados podem ser utilizados para balancear a dieta dos felinos, sendo metabolizados e utilizados como fonte de energia com grande eficiência.

Gatos não expressam a enzima glicoquinase, responsável pelo transporte e pela fosforilação da glicose, produzindo outras enzimas em maior quantidade para esta função, como a hexoquinase, a piruvatoquinase e a fosfofrutoquinase. Contudo essas enzimas apresentam menor eficiência na metabolização da glicose em grandes quantidades, ocasionando elevação nos níveis de glicemia pós-prandial. Além disso, os felinos não expressam a enzima amilase salivar, que inicia a digestão de carboidratos quando estes entram em contato com a saliva, o que seria outro indicativo da perda de habilidade destes animais na metabolização de CHOS (Laflamme, 2010).

Porém e podemos encontrar excelente digestibilidade do amido, com valores em torno de 94%, em dietas para gatos, mostrando que com uma adequação do processamento do ingrediente, como extrusão e a eficiência da amilase pancreática presente no organismo do animal e possível ter altos valores de digestibilidade para os ingredientes amiláceos (Carciofi, 2008).

Apesar de conhecermos a não essencialidade dos carboidratos como fator nutricional para gatos, na industrialização de alimentos secos os carboidratos são de suma importância, já que a maior parte dos alimentos produzidos para gatos é processada mediante extrusão. O processo de extrusão tornou-se uma importante técnica dentro de uma crescente variedade de processamento de alimentos, principalmente no mercado *pet food*. O processo de extrusão depende da presença de amido, que devido as suas características, contribui na expansão e coesão do produto final. A extrusão resulta em gelatinização de amido, desnaturação de proteína, formação de complexos entre amido e lipídeo e entre proteína e lipídeo. Estas mudanças influenciam na aparência, aroma, sabor e textura dos produtos finais (Guerreiro, 2007).

As dietas para gatos são fabricadas seguindo esse princípio, ainda que gatos sejam considerados carnívoros estritos. A redução da incorporação de carboidratos nas dietas para gatos é possível mediante técnicas modernas de processamento, mas a eliminação completa ainda não é possível em dietas extrusadas. Ainda, como os carboidratos ocupam frações que variam entre 20

e 50% da composição das dietas qualquer redução nos níveis de carboidratos deve ser acompanhada pela inclusão de outro nutriente que seja capaz de suprir a energia dos carboidratos retirados. O substituto deve ser bem metabolizado pelos gatos e permitir o processamento de extrusão das dietas. Diante de tais exigências poucos são os ingredientes que podem ser incluídos. Aumentar a inclusão de proteína e gordura pode ser formas práticas, mas encarecem as formulações e dificultam o processamento de extrusão em equipamentos convencionais. A glicerina como fonte de glicerol pode ser uma alternativa.

O glicerol, proveniente da glicerina, é reconhecido como uma substância segura para uso na alimentação, sendo considerada uma fonte de energia, podendo ser um substituto energético na dieta de gatos e favorecer o processo de extrusão. Segundo Ponciano Neto (2011), a utilização de 9% de glicerina reduziu o consumo de energia pela extrusora, ocasionando redução do gasto energético pela máquina e no custo de produção das rações para cães, sem influência sobre a qualidade final dos *kibbles*.

3. HIPÓTESES E OBJETIVOS

As hipóteses deste trabalho são:

- a) O glicerol em até 10%, não afeta a palatabilidade das dietas para gatos quando comparada a uma dieta sem glicerol.
- b) O glicerol pode ser incorporado nas dietas para gatos sem prejuízos na digestibilidade dos nutrientes, energia e escore fecal.
- c) O glicerol estimula o consumo de água e produção de urina.
- d) O consumo de glicerol por gatos reduz as concentrações pós-prandiais de glicose dos animais podendo ser um ingrediente de eleição para reduzir picos glicêmicos pós prandiais.

Neste sentido, o objetivo geral é avaliar o glicerol como fonte energética de dietas para gatos adultos mediante avaliação da palatabilidade, digestibilidade, escore fecal e parâmetros hematológicos e bioquímicos.

Os objetivos específicos foram:

- a) Determinar a palatabilidade de dietas contendo glicerol.
- b) Determinar a Energia Digestível do glicerol para gatos adultos.
- c) Determinar se a inclusão crescente de glicerol nas dietas reduz a curva glicêmica pós prandial dos gatos.

CAPÍTULO II⁽¹⁾

⁽¹⁾ Artigo escrito conforme as normas da Revista Animal Feed Science and Technology

Avaliação do glicerol em dietas para gatos adultos

G. S. Machado^a, J. G. Pezzalli^a, J.P. Matheus^a, F. R. Marx^a, A. M. Kessler^a, S. F. Valle^a,

L. Trevizan^{b*}

^aUniversidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Av. Bento Gonçalves, 7712, Porto Alegre, RS 90540-003, Brasil

^bAutor para correspondência: ltrevizan@ufrgs.br, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Av. Bento Gonçalves, 7712, Porto Alegre, RS 90540-003, Brasil Telefone: +5505133086854

Resumo: Glicerol é um aditivo umectante, redutor de atividade de água, que parece oferecer vantagens para a adição em dietas para gatos nas quais a umidade tenha que ser mantida elevada. De acordo com o U.S. Food and Drug Administration, o glicerol é reconhecido como uma substância geralmente segura (GRAS). Sugere-se que gatos sejam capazes de metabolizar e usar o glicerol como uma fonte de energia sem comprometimento à saúde animal. Três experimentos foram realizados com o objetivo de avaliar a palatabilidade (experimento 1), o coeficiente de digestibilidade aparente dos nutrientes, da energia bruta, características fecais, volume urinário (experimento 2) e curva glicêmica dos animais alimentados com dietas contendo níveis crescentes de glicerol (experimento 3). Doze gatas adultas, saudáveis foram distribuídas aleatoriamente entre os tratamentos constituídos por uma dieta basal (4.090 kcal/kg DM; 32% crude protein; 11% fat; 2,3% crude fiber; 7,0% mineral matter) e três outras dietas com diferentes níveis de glicerol purificado (2.5; 5 and 10%) adicionado por cobertura, substituindo a dieta basal. O testes de palatabilidade foi conduzido utilizando contrastes entre a dieta basal, 5% e 10% de glicerol. Os resultados do teste de palatabilidade indicaram que os gatos não demonstraram preferência por uma dieta ($P > 0,05$). Porém os gatos consumiram mais a dieta controle em relação às demais. No teste de digestibilidade foi observado que o aumento do glicerol na dieta não alterou o consumo de alimento, os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes e da

energia ($P < 0,05$). A inclusão do glicerol nas dietas não alterou o conteúdo de água nas fezes, escore fecal e o volume de urina, porém a excreção de glicerol pela urina foi aumentada quando houve incorporação de 10% de glicerol na dieta. No teste da curva glicêmica o consumo do alimento elevou a glicemia pós prandial dos animais até 900 minutos após a primeira ingestão de alimento sem diferença entre os tratamentos, mesmo quando as médias foram ajustadas para o consumo de alimento. A medida da área baixo da curva também não apresentou diferença significativa entre os tratamentos ($P > 0,05$). O glicerol, nas condições do estudo foi aceito pelos gatos e apresenta valor nutricional para gatos. Mais estudos devem ser realizados, levando em consideração a forma de inclusão do ingrediente na dieta.

Palavras Chaves: glicemia, insulina, glicose, glicerina, nutrição de felinos

1. Introdução

A disponibilidade, a previsão de produção crescente e a compatibilidade do glicerol purificado com a alimentação animal direcionam ao aproveitamento deste produto na nutrição animal. Além do valor nutritivo, o glicerol tem sido utilizado como um aditivo redutor da atividade de água que permite a conservação de alimentos com umidade elevada. Alguns experimentos testaram a inclusão de glicerol, a partir da glicerina, em dietas para diferentes espécies: suínos, coelhos, frangos, ruminantes e cães (Simon *et al.*, 1996; Cerrate *et al.*, 2006; Lammers *et al.*, 2008; Retore, 2010;. Lage *et al.*, 2010; Ponciano Neto, 2011), os quais atestam o glicerol como um ingrediente palatável em inclusões próximas a 10% da dieta com energia digestível em torno de 3.900 kcal/kg, dependendo da pureza do glicerol e da espécie animal em que foi testado.

Não parece haver restrições ao uso de glicerol em dietas para animais, mas a

glicerina, componente que apresenta variável concentração de glicerol (60 a 99%) apresenta algumas restrições quanto a presença de resíduos de metanol. O Food and Drug Administration (FDA) estabeleceu níveis máximos 150 ppm de metanol na glicerina utilizada na alimentação animal (AAFCO, 2008). No entanto, novas apresentações da glicerina, na forma bidestilada estão mais concentradas em glicerol e livres de metanol.

Os animais possuem vias metabólicas específicas para absorver e metabolizar glicerol uma vez que é encontrado naturalmente em vários ingredientes a partir de diferentes fontes, animal e vegetal. Trata-se de uma molécula de baixo peso molecular que estrutura triglicerídeos e fosfolipídios. Para maior parte das espécies apresenta rápida absorção. Após ingestão o glicerol pode ser absorvido ainda no estômago e intestino delgado e metabolizado no fígado e nos rins (Lin, 1977). No metabolismo energético é precursor do gliceraldeído 3-fosfato, um intermediário na lipogênese e na via gliconeogênica que produz energia através da via glicolítica e do ácido tricarbóxico (Lin, 1977; Tao et al., 1983).

Gatos são animais gliconeogênicos por natureza. A fisiologia, anatomia, metabolismo e adaptação comportamental particular dessa espécie evidencia sua exigência por uma dieta estritamente carnívora (Kirk et al, 2000) em que a participação de proteínas e gorduras cobrem a maior parte das necessidades da energia diária necessária e o consumo de carboidratos é restrito. Reduzir as concentrações de carboidratos nas dietas para gatos é um desafio para a nutrição animal uma vez que há interferência no processamento das dietas. A substituição por outros nutrientes como glicerol pode ser considerada como uma alternativa.

O objetivo deste estudo foi observar os efeitos da inclusão do glicerol em dietas para gatos adultos mediante a avaliação da palatabilidade, digestibilidade e curva

glicêmica pós prandial.

2. Material e Métodos

Os procedimentos utilizados neste estudo foram revisados e aprovados pelo Comitê de ética para o uso de Animais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Protocolo nº 23.953).

Todas as dietas experimentais foram formuladas a partir de uma dieta basal extrusada (Tabela 1), formulada seguindo às recomendações mínimas de nutrientes para gatos adultos (NRC, 2006).

Este estudo inclui três experimentos realizados para testar o uso do glicerol na alimentação de gatos adultos: palatabilidade, digestibilidade e curva glicêmica pós prandial.

2.1 Animais e alojamento

Todos os animais utilizados neste estudo pertenciam ao Laboratório de Ensino Zootécnico (LEZO) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Foram utilizadas 12 gatas adultas, sem raça definida, saudáveis, livres de endo e ectoparasitas. A saúde dos animais foi atestada mediante exames clínicos e laboratoriais (hemograma, bioquímicos e parasitológico). Os animais também foram testados para o vírus da Imunodeficiência Felina (FIV) e Leucemia Viral Felina (FeLV) através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR). As gatas foram alojadas em uma sala climatizada com temperatura média de $25^{\circ}\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ e área de solário para socialização. Gaiolas metabólicas individuais serviram de alojamento aos animais durante o período noturno, durante as refeições e para o período de colheitas de

fezes e urina. Os animais permaneceram sob ciclo de luz de 14 horas e 10 horas de escuro.

2.2. Experimento 1. Testes de palatabilidade

2.2.1. Dietas

Foram confeccionadas três dietas para o teste de palatabilidade. O teste foi realizado com três níveis de glicerol (glicerina branca bi-destilada (99,5%), BRQUIM Grupo MBN, Cachoeirinha, RS, Brasil) acrescentado em níveis crescentes por cobertura substituindo níveis de 5 e 10% da dieta extrusada compondo as seguintes dietas experimentais: GLYC 0%, GLYC 5% e GLYC 10%. As dietas receberam como cobertura o banho de gordura de frango e o palatilizante (Tabela 1).

2.2.1.1. Manejo e desenho experimental

A palatabilidade foi determinada pelo método de livre escolha, “*two pan*” (Griffin, 2003), com três comparações de (A vs. B). O efeito do glicerol na palatabilidade de alimentos para gatos adultos foi avaliado em seis refeições utilizando os seguintes contrastes: GLYC 0% vs. GLYC 5%; GLYC 0% vs. GLYC 5% e GLYC 5% vs. GLYC 10%. Foram utilizados nove animais, distribuídos ao acaso em três blocos, cada bloco com três repetições para cada contraste.

A fase experimental teve a duração de três dias, sendo ofertadas simultaneamente, 100g de cada dieta teste, lado a lado, em comedouros idênticos, por período de 30 minutos, quando os animais estavam individualizados em suas gaiolas metabólicas, no período da manhã (às 9h). Após este período os animais permaneceram soltos no solário. As sobras das dietas oferecidas na manhã foram pesadas. À tarde os animais foram colocados em suas gaiolas metabólicas e foram novamente alimentados e

permaneceram individualizados por toda a noite. No dia seguinte foram recolhidas as sobras, pesadas e depois descartadas. A cada refeição a apresentação dos alimentos a frente dos animais foi alternada para eliminar qualquer efeito de viés. Durante todo o período experimental os animais tiveram livre acesso à água.

Dois parâmetros foram observados durante estes experimentos: a primeira escolha (primeira dieta consumida pelo animal) e o consumo total. O consumo de cada dieta foi calculado subtraindo a quantidade do alimento que sobrou no comedouro do total da dieta inicialmente fornecida. Posteriormente foi calculada a média de consumo de cada dieta utilizando o valor de consumo dos três dias do período experimental.

A preferência alimentar foi determinada baseada na relação de consumo pela equação descrita por Griffin (2003), sendo: Relação de consumo da dieta A = consumo (g) da dieta A / total consumido da dieta A + B. Somente foram consideradas diferenças significativas quando a preferência foi superior a 80%.

2.3. Experimento 2: Digestibilidade

2.3.1. Dietas

Os tratamentos foram constituídos por quatro dietas confeccionadas a partir de uma dieta basal com três níveis de inclusão do glicerol por cobertura sendo representado pelo valor percentual, correspondendo ao acréscimo de glicerol na dieta (GLY 0% - dieta basal, GLY 2,5%, GLY 5%, GLY 10%) (Tabela 1).

2.3.2 Manejo e desenho experimental

Doze gatas adultas com peso médio $3,0 \pm 0,4$ kg foram distribuídas em um delineamento de blocos casualizados, em dois períodos experimentais consecutivos de 12 dias, com quatro tratamentos, três unidades experimentais por período, totalizando

24 unidades experimentais e seis repetições por tratamento, seguindo protocolo da AAFCO (2008). Os animais foram alojados em gaiolas metabólicas de aço inox.

Cada período da digestibilidade foi determinado em 12 dias, sendo cinco dias de adaptação à dieta e sete dias de coleta total de fezes e urina. As dietas foram pesadas e divididas em duas porções iguais, que foram fornecidas às 9h e às 17h. As sobras foram removidas antes da refeição seguinte, pesadas e registradas. A energia metabolizável (EM, kcal/kg) das dietas foi estimada e a quantidade de alimento fornecida aos animais foi inicialmente calculada usando as equações para determinar as necessidades de energia para manutenção de gatos adultos ($EM, kcal = 100 \times kg PV^{0,67}$) de acordo com o NRC (2006). Água foi disponibilizada *ad libitum* e o consumo foi avaliado duas vezes ao dia.

2.3.3 Coletas de amostras e Análises laboratoriais

Amostras das dietas, as fezes e urina dos animais foram coletadas, pesadas e armazenadas em freezer a $-22^{\circ}C$. A cada coleta foi feita a avaliação do escore fecal seguindo a seguinte escala: 1 = fezes líquidas (diarreia); 2 = fezes macias sem forma definida; 3 = fezes macias, bem formadas e úmidas; 4 = fezes duras, secas, firmes e bem formadas; 5 = fezes muito duras e ressecadas. Após o término das coletas as amostras de fezes foram homogeneizadas e secas em estufa $60^{\circ}C$ por 120h e em seguida moídas em moinho tipo wiley (DE-LEO® - Brasil) com peneira de crivos de um mm. O conteúdo de energia bruta das dietas, urina e fezes foi determinado por bomba calorimétrica (IKA® – WERKE modelo C2000 basic - Alemanha). As dietas e as fezes foram analisadas nos seus teores de matéria seca (920.36), matéria orgânica (920.36), cinzas (923.03), proteína bruta (954.01), fibra bruta (978.10) e gordura bruta (954.02) por hidrólise ácida de acordo com as recomendações de *Association of the Official*

Analytical Chemists – AOAC (950.02), (1995). As amostras de urina foram descongeladas e uma alíquota de 4 mL foi retirada para análise da concentração de glicerol (kit Enzytec™ Fluid Glycerol, R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany). O restante das amostras de urina foram liofilizadas para a análise de proteína bruta e energia bruta seguindo os protocolos da AOAC (1995). As amostras foram analisadas em duplicata e repetidas quando a variação foi maior do que 1% para energia e mais que 5% para demais análises.

2.4 Experimento 3: Curva Glicêmica

2.4.1. Dietas

As mesmas dietas utilizadas no experimento de digestibilidade foram utilizadas para estimar o comportamento da curva glicêmica pós prandial dos gatos (Tabela 1).

2.4.2. Manejo e desenho experimental

Os doze animais foram distribuídos ao acaso para receberem as quatro dietas experimentais em três períodos. Em cada período os animais foram alimentados por 21 dias para adaptação às dietas. Ao final de cada período foram realizadas colheitas sequenciais de sangue para medida de glicemia pós-prandial. Para o procedimento de coleta de sangue, os gatos foram submetidos ao jejum 8 horas no 18º dia após o início do fornecimento das dietas, em seguida foram sedados com 3 mg/kg da associação de zolazepam 250mg e tiletamina 250mg, associado a 0,05 mg/kg de acepromazina 0,2% em bolus, via intramuscular. Os animais foram tricotomizados na região da jugular e feita a antissepsia com álcool iodado para a colocação do cateter intravenoso central (Intracath, BD Intracath™ 22Gx12) associado a um plugue adaptador macho com pressão positiva para uso de seringas sem agulha, (Vygon). O cateter permaneceu

fixado com bandagem tipo coban (3M) até o final do período de colheitas (22º dia). O período compreendido entre o 18º e 21º dias foram necessários para a completa recuperação dos animais.

No 21º dia os animais foram alimentados entre 5:00 a 6:00 horas, e em seguida ficaram sem alimentação até às 18:00 horas para proporcionar 12 horas de jejum. As 18 amostras de sangue para a curva glicêmica foram obtidas nos seguintes períodos: 0, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420, 480, 540, 600, 660, 720, 780, 840 e 900 minutos. Antes do início do fornecimento de alimento aos animais foi realizada a primeira coleta de sangue. A partir daí o alimento foi disponibilizado aos animais e permaneceu até a última coleta. A cada coleta foi mensurado o consumo de alimento pela diferença de peso dos comedouros. Na primeira coleta, foi obtido 2 mL de sangue para hemograma, testes bioquímicos e glicemia no minuto 0. Nas demais colheitas foram obtidos aproximadamente 1,3 mL de sangue, sendo que 0,3 foi descartado, correspondente ao volume residual do cateter e 1 mL armazenado em tubos sem anticoagulante, para determinação imediata de glicose.

Ao final das colheitas os cateteres foram removidos e os animais permaneceram em observação por 24 horas.

2.4.3 Colheitas de amostras e Análises laboratoriais

As amostras de sangue colhidas em tubos específicos para hemograma e análises bioquímicas (BD Vacutainer, São Paulo, SP, sem anticoagulante), e encaminhados ao laboratório imediatamente após a coleta. No soro foram avaliadas a albumina, alanina aminotransferase (ALT), colesterol total, creatinina, fosfatase alcalina (FA), frutossamina, glicose, proteína total, ureia e triglicerídeos por colorimetria, conforme as indicações do fabricante (Labtest Diagnostica, Lagoa Santa, MG). Todas as amostras

foram avaliadas em duplicata em um analisador bioquímico automático (CM 200, Wiener, Argentina) com variação inferior a 5%. A análise da glicose foi realizada em até 40 minutos após a colheita da amostra de sangue. Duas alíquotas de contraprova foram armazenadas em freezer -22°C.

2.5 Análises estatísticas

2.5.1 Palatabilidade

Os resultados do teste de preferência alimentar foram submetidos ao *t-test* ($P < 0,05$) para dados pareados e a primeira escolha ao teste Qui-quadrado ($P < 0,01$) utilizando o pacote estatístico Statgraphics Plus versão 4.1.

2.5.2 Digestibilidade

Os resultados das variáveis estudadas foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) pelo programa estatístico SAS, versão 9.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Os resultados de glicerol na urina e fezes foram submetidos ao Proc GLM e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) pelo programa estatístico Statgraphics Plus versão 4.1. Os valores de escore fecal foram analisados pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ($P < 0,05$).

2.5.3 Curva glicêmica

Os resultados da avaliação da glicemia nas sucessivas colheitas foram submetidos à análise de variância através de médias repetidas no tempo. A área abaixo da curva e a diferença da área da curva em relação à área da glicemia basal foram analisadas pelo PROC GLM pelo programa estatístico SAS versão 9.0. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) utilizando o PROC Mixed e o consumo de alimento utilizado como covariável.

3. Resultados

Os parâmetros bioquímicos e hematológicos dos animais, ao longo do período experimental, permaneceram dentro dos valores de referência para a espécie felina (Kaneko et al. 1997; Jain, 1993). Ao longo de todos os experimentos o acréscimo do glicerol não influenciou a palatabilidade das dietas e não foram observados vômito, diarreia ou outro sinal clínico gastrointestinal que pudessem estar associados ao consumo do glicerol.

3.1. Palatabilidade

A inclusão do glicerol por cobertura a dieta extrusada não alterou o formato original dos *kibbles* que ficaram uniformes. A inclusão de 5 e 10% de glicerol, modificou a textura da dieta tornando-a mais macia com aparência úmida.

Nos testes de palatabilidade, a relação de consumo entre as dietas demonstra que os gatos consomem proporcionalmente a mesma quantidade de alimento se considerar que valores de relação de consumo são diferentes apenas quando maiores que 80%. O teste de primeira escolha do alimento não revelou preferência na apresentação simultânea das dietas quando oferecidas duas a duas ($P < 0,01$), indicando que a presença de glicerol, mesmo em 10%, não tornou as dietas menos atrativas para os gatos. (Tabela 3).

3.2. Digestibilidade

Durante o período de digestibilidade de 12 dias a média de peso inicial foi de 3,1 \pm 0,4 kg e peso final de 2,9 \pm 0,4 kg. Os animais mantiveram o peso corporal. O consumo total de alimento, nutrientes e energia não foi diferente entre os tratamentos

avaliados (Tabela 4). A inclusão do glicerol em substituição até 10% da dieta não foi capaz de interferir na digestibilidade dos nutrientes e da energia ($P > 0,05$), mas pode ser observado a redução no consumo de água quando a dieta contendo 10% de glicerol foi comparada com dieta sem adição de glicerol. O cálculo para estimativa da energia digestível do glicerol nas dietas por diferença resultou em 2450 kcal/kg.

A inclusão do glicerol nas dietas, independentemente dos níveis testados, não alterou o conteúdo de água nas fezes, a massa fecal e escore fecal dos animais. A excreção de glicerol pela urina foi aumentada quando houve incorporação de 10% de glicerol na dieta, mas o volume de urina excretado entre os tratamentos foi o mesmo, ainda que o consumo água tenha sido menor na dieta com maior inclusão de glicerol.

3.3. Curva Glicêmica

A proposta do delineamento experimental para este estudo levou em consideração o uso de seis repetições por tratamento para medida da curva glicêmica pós-prandial, no entanto a dificuldade de manter o cateter venoso central viável e a inapetência de alguns animais no momento da realização da curva glicêmica resultaram em um menor número de repetições por tratamento. No final do experimento, somente 17 das 24 curvas realizadas foram aproveitadas para análise, sendo quatro animais para o GLY 0%, três animais para o GLY 2,5% e cinco animais para o GLY 5% e GLY 10%. Os gatos consumiram a dieta em pequenas e várias refeições ao longo do período de oferta de alimento, mas não foi observado diferença sobre o consumo total de ração durante as curvas glicêmicas ($P > 0,05$). A glicemia basal média dos animais foi de $80,65 \pm 6,3$ mg/dL e a glicemia permaneceu elevada durante os 900 minutos observados ($P < 0,05$) (Figura 1). Os valores médios de glicemia entre os tratamentos ao longo do tempo não apresentaram diferenças significativas ($P > 0,05$) (Tabela 5). A comparação

da medida da área abaixo da curva obtida com aplicação dos tratamentos não apresentou diferença significativa ($P = 0,44$) nem mesmo quando os resultados foram descontados da área abaixo da curva correspondente a glicemia basal ($P = 0,97$).

4. Discussão

No experimento de palatabilidade não houve diferença significativa para primeira escolha ($P > 0,05$) nos testes realizados. O glicerol não tornou as dietas menos atrativas aos gatos. Trata-se de uma substância com características umectantes (Krabbe & Néri, 2009) o que poderia causar um aumento da umidade da dieta e a consequente volatilização de alguns odores, principalmente dos palatilizantes de cobertura do alimento (Félix et al. 2010), resultando na melhora da aceitação da dietas nas quais o glicerol estava presente, fato não observado neste estudo. Segundo Case (2011), cães e gatos tem o sentido olfativo altamente desenvolvido, sendo que o odor de um alimento influencia significativamente a preferência alimentar em ambas as espécies. Quando as dietas são apresentadas aos gatos, eles primeiro cheiram e em seguida consomem o alimento com o odor mais atrativo, sem provar a comida menos atraente. A primeira escolha é determinada pelo primeiro alimento provado pelo animal, e neste teste, os gatos não foram capazes de definir preferência alimentar entre as dietas testadas.

Segundo Zanguini & Biagi (2005), o tamanho, forma e textura de kibbles também influenciam a palatabilidade dos alimentos para os gatos. Na dieta com maior nível de glicerol por cobertura foi possível visualizar que o glicerol proporcionou amolecimento do *kibble* extrusado tornando-o mais macio e com tendência a maior umidade diferentemente das dietas comerciais para gatos em que a crocância é a característica principal, porém a relação de consumo não foi afetada pela inclusão do glicerol por cobertura nas dietas.

Ponciano Neto (2011) relata que a inclusão de glicerina (68% glicerol) em dietas para cães adultos influenciou positivamente a preferência alimentar e também a primeira escolha com a inclusão de até 9% de glicerina. Os cães possuem papilas gustativas com predominância das unidades sensíveis aos aminoácidos caracterizados como doces, por humanos. Os cães respondem a uma gama de substâncias doces (Bradshaw, 2006). O glicerol presente na glicerina possui sabor adocicado e provavelmente, por essa razão os alimentos contendo glicerina foram melhor aceitos pelos cães. Não foram encontrados estudos que avaliassem os efeitos do glicerol sobre o consumo de alimentos em felinos domésticos.

Durante o estudo de digestibilidade os gatos não tiveram alteração de peso corporal e o consumo total de alimento não foi diferente entre os tratamentos, resultados semelhantes aos encontrados no estudo com cães adultos, por Ponciano Neto (2011). Retore (2010), em estudo com 108 coelhos da raça Nova Zelândia observou queda linear do ganho de peso vivo dos animais alimentados com 12% de inclusão de glicerina (68% glicerol), piorando a conversão alimentar em comparação aos animais que receberam a ração sem glicerol. Em outro estudo com suínos, o peso corporal dos animais não variou quando os animais receberam dietas com inclusão de 0 a 10% de glicerol, semelhante aos resultados obtidos neste estudo com gatos. No entanto, nas carcaças de suínos foi possível observar retenção de água nos tecidos pelo aumento da pressão osmótica intracelular (Mourot, 2009). A composição tecidual de água não foi avaliada em gatos, mas se o consumo de glicerol auxilia na retenção de água tecidual, a perda de peso dos animais pode ter sido mascarada pela hidratação dos tecidos. Estes indícios tornam interessante a pesquisa do glicerol na nutrição clínica de gatos. O glicerol dietético pode funcionar como um componente que favorece a perda de peso e aumenta a incorporação de água aos tecidos, fato importante para o estabelecimento da

hidratação.

No experimento com os gatos o consumo de água foi influenciado pelo consumo de alimento (MS). Segundo pesquisas desenvolvidas por Soares et al. (2007), um dos fatores de maior impacto no consumo de água é o consumo do alimento (MS). Para cada grama de MS consumida pelos gatos ocorreu um aumento no consumo de 1,45mL de água. Este resultado é proveniente da seguinte equação: Consumo total de água = $270,47 + 1,45 * \text{consumo total de matéria seca (g)}$ ($P = 0,0286$ e $r^2 = 20,82\%$). O glicerol consumido influenciou negativamente o consumo total de água, ao contrário do esperado, já que o glicerol possui características higroscópicas. É possível que as dietas expostas nos comedouros tenham sofrido influência da higroscopicidade do glicerol, aumentando o conteúdo de água ingerido pelos animais. No entanto, neste estudo a MS das dietas não foi avaliada ao longo das refeições. O consumo de dietas mais úmidas poderia influenciar o consumo total de água uma vez que ingerindo alimentos mais úmidos o consumo voluntário de água seria reduzido.

Uma vez que o glicerol seja ingerido a digestão parece ser elevada com vistas na sua solubilidade. Após a digestão de alimentos, a absorção intestinal do glicerol varia em torno de 70 a 90% em ratos (Lin, 1977) e em suínos e poedeiras em torno de 97% (Bartelt e Schneider, 2002). O glicerol segue por via portal uma vez que sua solubilidade o direciona para este caminho até o fígado. Segundo Lin (1977), o fígado é responsável por aproximadamente 90% da capacidade total do corpo em metabolizar o glicerol, devido à gliconeogênese, enquanto o rim é responsável por cerca de 10%. O rim pode reabsorver o glicerol, mas quando é acometido por um excesso, o glicerol excedente é excreto pela urina. Segundo Doppenberg & Van Der Aar (2007), suínos que possuem limitação na ativação de enzimas para utilização de glicerol ao consumirem altos níveis de glicerina na alimentação proporcionam baixo conteúdo energético, pois o

sistema enzimático (glicerol-quinase) torna-se saturado na conversão do glicerol para glicerol 3 fosfato (G3P), sendo o glicerol excretado pela urina. Neste estudo, com gatos, o aumento da incorporação do glicerol nas dietas cursou com maior excreção de glicerol na urina. Para cada grama de glicerol consumido a excreção foi de 0,0013g de glicerol, revelando a saturação da G3P como ocorre em outras espécies. Bartelt & Schneider (2002) propuseram que os valores de energia metabolizável do glicerol puro para frangos de corte, poedeiras e os suínos variam de acordo com a inclusão na dieta e sugerem que ocorra queda na energia metabolizável aparente quanto maior a inclusão, isso devido a ausência da reabsorção renal do glicerol, sendo o excesso excretado pela urina. Os mesmos pesquisadores observaram em suínos alimentados com níveis de 5, 10 e 15% de glicerol (99,9%) os valores de energia metabolizável: 4.177, 3.436, e 2.524 kcal/kg, respectivamente. Gianfelici (2009) observou que quando há ingestão de quantidades crescentes de glicerol, deve existir um nível a partir do qual a capacidade de metabolização é superada, causando então, um aumento no glicerol no sangue, o qual deve ser excretado pela urina. Os níveis de glicerol na dieta e a excreção urinária dos gatos neste estudo podem ser explicada pela equação: Excreção de glicerol na urina (g) = $0,00860502 + 0,00139946 * \text{glicerol total consumido (g)}$ ($P = 0,0094$ e $r^2 = 30,53\%$).

Segundo Menten et al. (2009), o valor energético da glicerina bruta é resultante de cada processo industrial e deve ser determinado em função de pureza em glicerol, uma vez que diversas impurezas podem estar presentes no produto, como triglicerídeos e ácidos graxos que acabam fornecendo energia e superestimando os valores de energia das glicerinas testadas.

Lammers et al. (2007), em um experimento com suínos em crescimento, obtiveram o valor de ED de 3.386 ± 149 kcal/kg para glicerina (87% glicerol; EB = 3625kcal/kg; GB = 0,12%; ácidos graxos totais = 0,29%; CD = 93%). Em um estudo

realizado com coelhos por Retore (2010), os valores de energia digestível para a glicerina (54% glicerol; EB = 5.586kcal/kg; ácidos graxos totais = 23,3% CD = 91%) e glicerina (68% glicerol EB = 5.552kcal/kg; ácidos graxos totais = 21,5% CD = 89%) foram: 5.099 e 4.953 kcal/kg de matéria seca, respectivamente. Analisando os estudos citados é possível observar que a digestibilidade da energia bruta foi de 93% no estudo de suínos, e 91% e 89% nas glicerinas testadas em coelhos. Quando aplicado a metodologia utilizada por Matterson et al. (1965), a ED do glicerol para gatos foi de 3899 kcal/kg apresentando o erro padrão da média de 1401 kcal/kg, demonstrando a variação encontrada nas médias da ED do glicerol neste estudo. E o valor de digestibilidade do glicerol calculado a partir da equação de Matterson gerou um coeficiente de digestibilidade da energia de 90%, próximos aos encontrados para outras espécies. Para a espécie mais próxima dos gatos, o estudo de Ponciano Neto (2010) com cães adultos, revelou o coeficiente de metabolizabilidade de 97,8% utilizando glicerina semipurificada (68% glicerol) com 5381 kcal/kg de energia bruta. Glicerinas menos puras em glicerol tendem a conter restos de triglicerídeos e fosfolipídeos que podem elevar o conteúdo de energia das dietas, mas resultados próximos a isso seriam esperados para gatos.

A análise das curvas glicêmicas não atenderam a hipótese experimental uma vez que a inclusão de glicerol não reduziu os valores de glicemia pos prandial. O aumento da glicemia no pós prandial foi evidente ao longo do tempo uma vez que os animais permaneceram com alimento disponível durante todo o período experimental. De acordo como relato de Fischer et al. (2012) este método é o mais adequado para os gatos, pois mimetiza o comportamento normal de ingestão de alimentos dos felinos que consomem mais de 15 pequenas refeições por dia (NRC, 2006).

O número de observações mínimo neste experimento não foi alcançado, alguns

animais não consumiram o alimento após a oferta e permaneceram inapetentes por horas impedindo a avaliação. Outros animais removeram o cateter da posição e foram retirados do experimento. O reduzido número de observações em cada tratamento pode ter contribuído para resultados pouco conclusivos que impediram a observação de diferenças entre os tratamentos. Ainda, as diferenças esperadas nestes tratamentos se devem a substituição da dieta experimental (GLY0%) pelo glicerol e não pela substituição do amido da dieta. Resultados mais expressivos talvez pudessem ser vistos no segundo caso em que o amido, principal responsável pelo índice glicêmico fosse substituído pelo glicerol. Nas dietas experimentais a concentração de amido foi pouco reduzida pelo acréscimo do glicerol, dessa forma os efeitos do glicerol sobre a curva glicêmica não puderam ser evidenciados. Dietas com baixas concentrações de amido deveriam ser utilizadas para mostrar tais efeitos.

O potencial do glicerol em reduzir índices glicêmicos pós prandiais ainda continua sendo uma hipótese para gatos visto o metabolismo particular deste nutriente.

O glicerol pode ser convertido em glicose via gliconeogênese ou oxidado para produção de energia, através da glicólise e ciclo de Krebs, que pode ser responsável por 60% do destino metabólico do glicerol em condições basais (Robergs & Griffin, 1998). O glicerol ingerido pode ter seguido a via de produção de energia, sem efeito sobre a curva glicêmica. Resultados semelhantes foram constatado por Hansen et al. (2009) que não observaram efeito nos níveis plasmáticos de glicose em suínos alimentados com até 16% de inclusão de glicerina semipurificada. Ponciano Neto (2010), não observou diferenças da glicemia sérica, no intervalo de 10 dias em um estudo em cães que foram alimentados com 9% de glicerina semipurificada (68% glicerol).

O efeito do glicerol ainda necessita ser melhor conhecido para a inclusão em dietas para gatos.

5. Conclusão

Os níveis de até 10% de glicerol adicionado não alterou a preferência alimentar dos gatos, não afetou a digestibilidade dos nutrientes, da energia e o escore fecal dos animais. A inclusão de 10% ocasionou eliminação de parte do glicerol via urinária mas não interferiu na produção de urina e o consumo de água foi menor. A substituição de 10% da dieta por glicerol não reduziu as concentrações pós-prandiais de glicose.

Tabela (1). Composição das dietas dos testes de palatabilidade, digestibilidade e curva glicêmica.

	Dietas Experimentais						
	Palatabilidade			Digestibilidade e Curva Glicêmica			
	Teste 2 - Cobertura						
Ingredientes (g/kg)	GLY C 0%	GLYC 5%	GLYC 10%	GLY 0%	GLY 2,5%	GLY 5%	GLY 10%
Dieta Basal ¹	1000	952,4	909,1	1000	975	950	900
Glicerina ²	0	47,6	90,9	0	25	50	100
Amido de Milho	0	0	0	-	-	-	-
Nutrientes (g/kg)							
Matéria Seca	923,6	910,5	904,46	876	870	861,3	853,
Cinzas	98,9	95,9	91,4	70,0	72,2	72,3	9
Proteína Bruta	329	318	311	323	317	319	67,3
Extrato Etéreo	95	86	80	106	104	105	295
Fibra Bruta	15	14	13	23	22	21	93
Energia Bruta (kcal/kg)	4800	4851	4850	4949	4890	4922	4950

¹Ingredientes para 1000 kg de dieta basal: milho (104 kg), quirera de arroz (305 kg), glúten de milho 60% (100 kg), farelo de trigo (120 kg), farinha de vísceras de frango (280 kg), farinha de carne e ossos bovina (35 kg), gordura de frango (20 kg), sal (7 kg), hidrolisado de carne (20 kg), extrato de yucca (0,3 kg), ácido fosfórico (4,7 kg), premix³ vitamínico/mineral (4 kg).

²Glicerina Branca bi-destilada USP – Distribuída por BRQUIM, Cachoeirinha, RS, Brasil. Teor de glicerol 99,5%, cloretos Máx. 10mg/kg, sulfatos(PPM) Máx. 20 mg/kg, metais pesados 5 mg/kg, compostos clorados 0mg/kg, EB: 4332 kcal/kg.

³Vitamina A (10.800 UI), Vitamina D3 (980 UI), Vitamina E (60 mg), Vitamina K3 (4,8 mg), Vitamina B1 (8,1 mg), Vitamina B2 (6 mg), Vitamina B6 (6 mg), Vitamina 12 (30 mcg), Ácido Pantotênico (12 mg), Niacina (60 mg), Ácido Fólico (0,8 mg), Biotina (0,084 mcg), Manganês (7,5 mg), Zinco (100 mg), Ferro (35 mg), Cobre (7 mg), Cobalto (10 mg), Iodo (1,5 mg), Selênio (0,36 mg), Colina (2400 mg), Taurina (100 mg), Antioxidante BHT (150 mg).

Tabela 2. Primeira escolha e relação de consumo entre as dietas testadas duas a duas com diferentes níveis de inclusão de glicerol (0%, 5% e 10%) em diferentes formas de inclusão: na mistura e por cobertura da dieta.

Teste 1- A vs B (Inclusão na cobertura)	Primeira escolha		Relação de consumo (RC)		
	N ^a	P ^b	RC da dieta A ^c	EPM	P ^d
GLYC0% vs. GLYC5%	9 (50%)	0,18	0,73	0,06	P<0,01
GLYC0% vs. GLYC10%	10(55%)	0,39	0,69	0,06	P<0,01
GLYC5% vs. GLYC10%	9 (50%)	0,36	0,33	0,06	P<0,01

GLYM/C 0 = dieta controle sem GLY, GLYM/C 5= dieta contendo 5% de GLY e GLYM/C 10 = dieta contendo 10% de GLY.

n = número e percentagem de observações da primeira escolha com a dieta A

^a 54 observações a partir de 9 animais observados: em 2 refeições;

^b valor analisado a partir do teste qui-quadrado

^c relação de consumo (RC) = consumo da dieta A (g) / consumo total da dieta A + B (g)

^d valor analisado a partir do t-teste pareado

EPM= erro padrão da média

Tabela 3. Consumo de nutrientes, coeficiente de digestibilidade, excreção de glicerol e características fecais e urinárias de gatos alimentados com dietas contendo diferentes níveis de glicerol.

Itens	Tratamentos [†]				EPM	P-value
	GLY 0%	GLY 2,5%	GLY 5%	GLY 10%		
Consumo de ração (g/dia)						
Matéria seca	40,8	44,5	41,7	36,2	3,24	0,3683
Matéria Orgânica	37,8	41,2	38,6	33,8	3,01	0,3907
Proteína Bruta	13,2	14,1	13,3	10,7	1,02	0,1351
Extrato Etéreo	4,3	4,7	4,4	3,4	0,33	0,0580
Energia Bruta (kcal)	201,8	217,4	205,0	179,3	16,01	0,4213
Energia Digestível (kcal)	165,2	183,5	165,3	145,4	12,75	0,2466
Nutriente digestível (g/kg)						
Matéria Seca	787,2	823,5	771,8	774,1	2,29	0,3792
Matéria Orgânica	828,1	850,0	809,3	812,7	1,89	0,4274
Proteína Bruta	809,1	820,0	784,3	778,8	2,54	0,6244
Extrato Etéreo	868,3	872,8	850,4	812,1	1,72	0,0817
Energia Digestível (kcal/kg)	4090	4147	3988	4009	47,58	0,6005
Consumo de Água (L/dia)	0,12 ^a	0,09 ^{ab}	0,10 ^{ab}	0,08 ^b	9,45	0,04
Características fecais						
Escore Fecal [‡]	3,4	3,1	3,2	3,2	0,06	0,3408
MS Fecal (g/kg)	355,7	339,4	390,9	377,3	1,87	0,2485
Fezes MN (g/dia)	24,5	23,6	25,0	22,2	3,58	0,9477
Fezes MS (g/dia)	8,8	8,1	9,7	8,2	1,32	0,8127
Características urinárias						
Volume total (L/dia)	0,045	0,032	0,034	0,039	0,006	0,5271
Excreção de Glicerol (g)•	0,0023 ^a	0,0020 ^a	0,0031 ^a	0,0093 ^b	0,002	0,0082

MS=matéria seca; MN= matéria natural; GLY= glicerol; EPM= erro padrão da média.

Escore fecal = aquoso: líquido que pode ser derramada; 2 = macio, informe: fezes assumem forma de recipiente, 3 = macio, formado, úmido: fezes mais suaves que mantém forma; 4 = duro, formado, fezes secas: contínua firme e suave; 5 = rígidos, pellets secos: massa pequena, dura;

‡Não significativo pelo teste Kruskal-Wallis.

•Médias seguidas de letras distintas na mesma linha diferem entre si. Consumo total de água - teste de Duncan ($P \leq 0,05$) e Excreção de Glicerol - teste de Duncan ($P \leq 0,05$).

†Nível de inclusão sobre a dieta basal

Médias não diferem significativamente pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

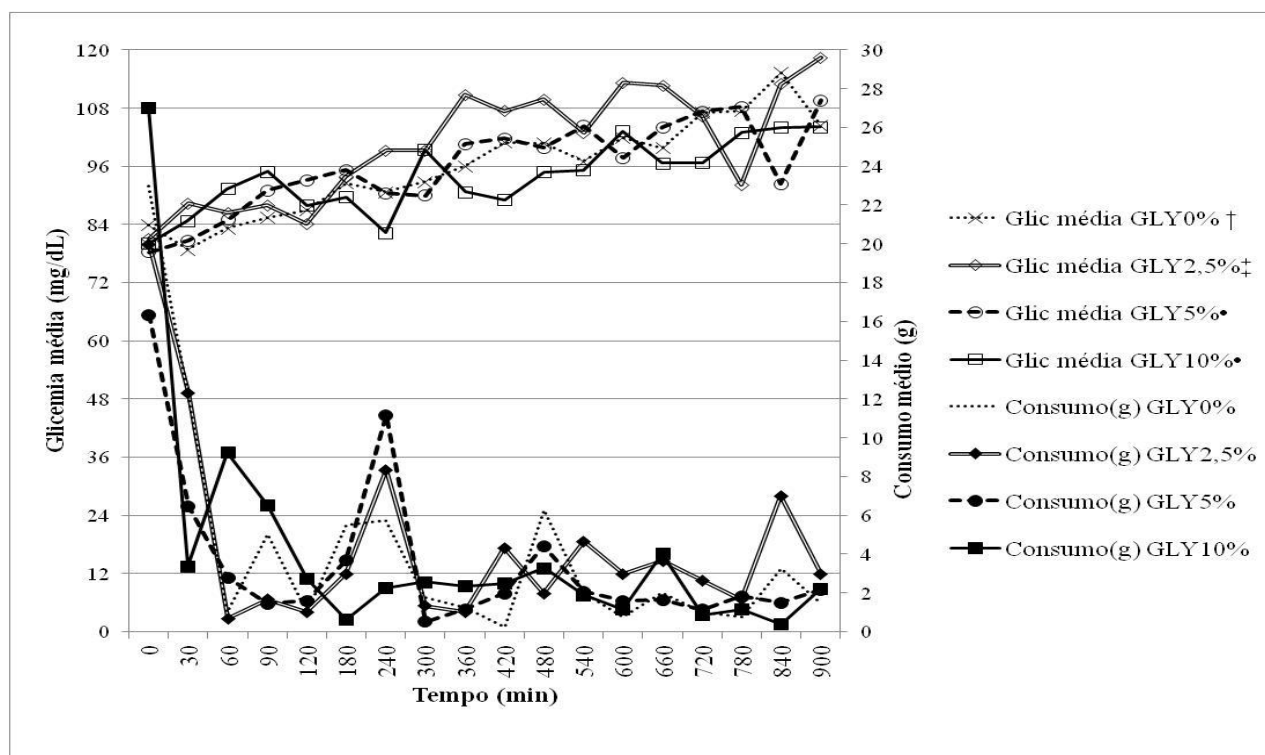


Figura 1. Médias de glicose sérica (mg/dL) e médias dos consumos de alimento (g) dos gatos alimentados com dietas contendo níveis de inclusão de glicerol (GLY0%, GLY2,5%, GLY5% e GLY10%) de 0 a 900 minutos após alimentação.

* Médias não significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). †n=obtido por 72 observações em 4 animais; ‡n=obtido por 54 observações em 3 animais; •n=obtido por 90 observações em 5 animais;

Tabela 4. Consumo Total Médio (CTM), Área Abaixo de Curva (AAC), Área da Diferença Abaixo da Curva (ADAC), Concentração Basal Média de glicose (CBM), Concentração Glicêmica Média (CGM), tempo e valor do pico glicêmico em gatos alimentados com níveis de 0 a 10% de glicerol em substituição a dieta durante 900 minutos.

Itens ¹	Tratamentos				EPM	P
	GLY0%	GLY2,5%	GLY5%	GLY10%		
CTM (g)	74,3	71,3	59,4	52,5	0,44	0,0652
Glicerol Consumido(g) ²	0 ^a	1,7 ^{ab}	2,8 ^{bc}	5,2 ^c	0,56	0,0004
AAC (mg·dL ⁻¹ ·h ⁻¹)	1561	1631	1554	1508	0,97	0,5673
ADAC (mg·dL ⁻¹ ·h ⁻¹)	217	336	304	242	1,06	0,6192
CBG (mg/dL)	83,9	81,1	78,3	80,1	0,98	0,6511
CGM (mg/dL)	95,9	100,4	96,1	93,8	1,14	0,2248
Tempo Pico Glicêmico (min)	810	900	900	900	-	-
Pico Glicêmico (mg/dL)	113	118	110	104	-	-

Médias com letras distintas diferirem entre si pelo teste de tukey (P < 0,05).

¹Amostra de sangue 2 mL, foram retiradas aos 0 minutos antes da alimentação e 1,3 mL após a alimentação nos minutos 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420, 480, 540, 600, 660, 720, 780, 840 e 900.

² Glicerol adicionado a dieta.

6. Referências Bibliográficas

- AMERICAN ASSOCIATION OF FEED CONTROL OFFICIALS (AAFCO), Official publication. 2008. Oxford, Ind: Association of American Feed Control Officials.
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 15th ed. Assoc. Offic. Anal. Chem. Arlington, VA.
- BARTELT, J., & SCHNEIDER, H. D. 2002. Glycerine in der Tierernährung. UFOP-Schriften, Bonn Germany, 15–36.
- BRADSHAW, J.W.S.. 2006. The evolutionary basis for the feeding behavior of domestic dogs (*Canis familiaris*) and cats (*Felis catus*). *The Journal of Nutrition*. p. 1927S-1931S.
- CASE, L. P., Daristotle, L., Hayek, M. G., Raasch, M. F. 2011. Canine and feline nutrition: A resource for companion Animal Professionals. 3rd ed. Mosby, p. 13-78.
- CERRATE, S.; YAN, F.; WANG, Z. et. al. 2006. Evaluation of glycerine from biodiesel production as a feed ingredient for broilers. *International Journal of Poultry Science*, v.5, n.11, pp.1001-1007.
- DOPPENBERG, J.; VAN DER AAR, P.J. 2007. BIOFUELS: Implications for the feed industry. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, p. 73–88.
- FÉLIX, A.P.; OLIVEIRA, S.G.; MAIORKA, A. 2010. Fatores que interferem no consumo de alimentos em cães e gatos. In: Sérgio L. Vieira. (Org.). Consumo e preferência alimentar dos animais domésticos. 1 ed. Londrina: Phytobiotics, v.1, p. 162-199.
- FISCHER M.M., KESSLER A.M., Sá L.R.M. et al. 2012. Fiber fermentability effects on energy and macronutrient digestibility, fecal traits, postprandial metabolite responses, and colon histology of overweight cats. *Journal Animal Science*, v. 13, p. 4334-4339.
- GIANFELICI, M. F. 2009. Uso de glicerol como fonte de energia para frangos de corte. 2009. 129f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul/Faculdade de Agronomia, Porto Alegre.
- GRIFFIN, R. 2003. Palatability testing methods: Parameters and analyses that influence test conditions. *Petfood Technology*. 1ªed. J. L. Kvamme and T. D. Phillips, Ed. Watt Publishing Co. Mt. Morris, IL, p. 187-193.
- HANSEN, C. F.; HERNANDEZA, A.; MULLAN, B. P. 2009. 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*, vol. 49, p. 154–161.
- JAIN, N.C. 1993. Essentials of veterinary hematology. Philadelphia: Lea & Febiger.
- KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (eds.) 1997. Clinical biochemistry of

domestic animals. 5th ed. New York: Academic Press.

KIRK, C. A.; DEBRAEKELEER, J; ARMSTRONG, P. J.. 2000. Normal cats. In: HAND, M. S.; Thatcher, C. D.; REMILLARD, R. L.; ROUDEBUSH, P. R. Small animal clinical nutrition. 4ed. Estados Unidos. Walsworth Publishing Company. p 80-95, p 293-303.

LAGE J. F.; PAULINO P. V. R. et al. 2010. Glicerina bruta na dieta de cordeiros terminados em confinamento. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.45, n.9, p.1012-1020.

LAMMERS, P.; HONEYMAN, M.; KERR, B. et al.. 2007. Energy value of crude glycerol fed to pigs. Sheffield: Iowa State University Animal Industry Report, Disponível em: <<http://www.ans.iastate.edu/report/air/2007pdf/R2225.pdf>> Acesso em: 06 de fevereiro de 2013.

LAMMERS, P.J.; KERR, B.J.; WEBER, T.E. et al.. 2008. Digestible and metabolizable energy of crude glycerol for growing pigs. Journal of Animal Science, v.86, pp.602-608.

LAMMERS, P.J.; KERR, B.J.; HONEYMAN, M.S. et al.. 2008. Nitrogen-corrected apparent metabolizable energy value of crude glycerol for laying hens. Journal of Animal Science, v.87, n.1, pp.104-107.

LIN, E.C.C. 1977. Glycerol utilization and its regulation in mammals. Annual Review of Biochemistry, Palo Alto, v. 46, pp. 765-795.

MENTEN, J.F.M.; MIYADA, V.S.; BERENCHTEIN, B. 2009. Glicerol na alimentação animal. (2009). Disponível em: <http://www.agrolink.com.br/downloads/glicerol_2009-03-13.pdf> Acesso em: 12/10/2013.

MOUROT, J.. 2009. Utilisation du glycérol en alimentation porcine. INRA Productions Animales, n.5, v.22, p.409-414.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 2006. .Nutrient requirements of dogs and cats. Washington, DC: National Academies Press.

PONCIANO NETO, B. 2011. Uso de glicerina na alimentação de cães adultos. Dissertação de Mestrado em Produção Animal – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brazil, 32p.

RETORE, M. 2010. Glicerina de biodiesel na alimentação de coelhos em crescimento. Tese de Doutorado em Produção Animal – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brazil. 76p.

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

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

SOARES, L.F., A.M.L Ribeiro, A.M Penz Jr e Ghiotti A. 2007. Influência da restrição de

água e ração durante a fase pré-inicial no desempenho de frangos de corte até os 42 dias de idade. *Rev. Bras. Zootec.* 36(5):1579-1589.

TAO, R.C.; KELLEY, R.E.; YOSHIMURA N.N.; et al. 1983. Glycerol: Its metabolism and use as an intravenous energy source. *Journal Parenteral Enteral Nutrition*, v.7, p.479-488.

CAPÍTULO III

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Ao iniciar os experimentos com os gatos encontramos um grande problema, a dificuldade de obtenção dos animais saudáveis para conduzir o experimento. É conhecido que o sucesso dos trabalhos de pesquisa e a qualidade dos resultados experimentais em nutrição dependem de diversos fatores, sendo a sanidade dos animais um fator muito importante. No Brasil, atualmente, não existem biotérios que forneçam felinos domésticos livres de agentes patogênicos específicos (SPF – Specific Pathogen Free), por isso adquirimos as gatas de um acumulador de animais. Ao chegar ao LEZO, os animais apresentavam-se magros, pelagem opaca com áreas alopecicas e lesões de pele, sinais relacionados à desnutrição e às más condições do alojamento correntes. Também apresentavam endo e ectoparasitas, diarreias constantes e sinais clínicos de rinotraqueíte. Após quatro meses de cuidados clínicos e terapêuticos dos animais foi possível iniciar o experimento.

- Ultimamente, a utilização de coprodutos energéticos nas dietas para gatos vem sendo estudada. Os coprodutos contribuem de forma substancial para o crescimento das indústrias fabricantes de alimentos, fornecendo parte dos nutrientes das dietas devido a utilização destes ingredientes, preconizando uma relação favorável de custo vs benefício. Outro fator importante que vem sendo observado na nutrição pet é a evolução dos hábitos em favor dos alimentos industriais associada a um conjunto de fatores cada vez mais difundidos: alimentação sadia, equilibrada e com grande variedade de produtos-praticidade. Parente este cenário, reduzir as concentrações de carboidratos nas dietas para os felinos domésticos é um desafio para a nutrição animal uma vez que há interferência no processamento das dietas. Por isso os resultados desta pesquisa podem contribuir para a adequada inclusão do glicerol, ingrediente energético e presente em dietas de animais carnívoros uma vez que compõe: triglicerídeos, fosfolípidos e outras formas de gorduras ingeridas nas dietas para gatos.

- A proposta inicial seria que o glicerol em substituição a porção energética (amido) da dieta seria capaz de reduzir a glicemia dos gatos, foi confeccionado uma ração com níveis de 5 e 10% de glicerol em substituição aos mesmos níveis de amido adicionado a dieta. Porém a confecção e peletização das dietas foram realizadas de maneira artesanal. Gerou um pelete pouco resistente e no tratamento com adição de 5%glicerol + 5% de amido, o pelete apresentou uma textura emborrachada. Esse fator fez que o a hipótese inicial fosse alterada, sendo apenas observado o comportamento da glicemia dos gatos alimentado com glicerol.

- A desuniformidade dos animais e a desigualdade no consumo entre os animais foi um fator que aumentou a variação nos experimentos apresentando uma dificuldade no estudo. Outra causa importante é a metodologia de substituição utilizada. A substituição da dieta aos níveis de até 10% testados de inclusão do glicerol, apresentou dificuldades para esta espécie, já que o consumo é realizado por várias refeições durante o dia e para esta metodologia o ideal era que os animais consumissem todo o conteúdo oferecido todo de uma vez.

- A escolha de gatas para a pesquisa foi determinante para as coletas de urina, sabendo que o comportamento urinário dos gatos prejudicaria as coletas.

- Ao final do estudo é possível considerar que a inclusão de até 10% de glicerol não interfere na glicemia pós-prandial dos gatos e na digestibilidade dos nutrientes, podendo ser considerado um ingrediente energético alternativo. Porém o glicerol na alimentação dos gatos alterou a preferência alimentar, reduzindo o consumo à medida que o glicerol foi acrescentado as dietas. Estudos nutricionais mais aprofundados devem ser realizados com a espécie.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABD-ELSAMEE, M. O. et al. Use of crude glycerin in broiler diets. **Egyptian Poultry Science**, Alexandria, v. 30, n. 1, p. 281-295, 2010.

AGAR, S. **Small animal nutrition**. Grã Bretanha: Elsevier Limited, 2007. 187 p.

AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO. **Anuário Estatístico Brasileiro do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis**. 2013. Rio de Janeiro: ANP, ano. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br>>. Acesso em: 09 jan. 2014.

ARRUDA, P. V.; RODRIGUES, R. C. L. B.; Felipe, M. G. A. Glicerol: um subproduto com grande capacidade industrial e metabólica. **Revista Analytica**, São Paulo, n. 26, 2007.

ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS. **Official Publication**. Oxford, IN, USA: Association of American Feed Control Officials Incorporated, 2008.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO. **Dados de Mercado**. Disponível em: <<http://abinpet.org.br/>>. Acesso em: 30 dez. 2013.

BATISTA, E. **Avaliação nutricional do glicerol para codornas de corte**. 2010. 58 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2010.

BERENCHTEIN, B. et al. Utilização de glicerol na dieta de suínos em crescimento e terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, n. 7, p. 1491-1496, 2010.

BEST, P. Increased biofuel production will grow supplies of by-products: glycerine gives an energy option. **Feed International**, Illinois, v. 55, n. 12, p. 20-21, 2006.

CARCIOFI A. C. Fontes de proteína e carboidratos para cães e gatos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa v. 37, p. 28-41, 2008.

CASA, G. et al. Use of pure glycerol in fattening heavy pigs. **Meat Science**, Barking, v. 81 n. 1, p. 238–244, 2008.

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

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A. **Bioquímica Ilustrada**. 2. ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1996. 533 p.

DASARI, M. Crude Glycerol Potential Described. **Feedstuffs**, Minnetonka, v. 79, 2007.

DOPPENBERG, J.; VAN DER AAR, P. J. **BIOFUELS**: Implications for the feed industry. Wageningen: Wageningen Academic Publishers, 2007. p. 73-88.

DOZIER III, W. A. et al. Apparent Metabolizable Energy of Glycerin for Broiler Chickens. **Poultry Science**, Champaign, v.87, n. 2, p. 317–322, 2008.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Publicações**. 2011. Disponível em: <<http://www.fao.org/home/en/>>. Acesso em : 10 abr. 2013.

GAUDRÉ, D. et al. Utilisation et valeur énergétique du glycérol chez le porc em croissance. **Journées Recherche Porcine**, Rennes, v. 44, p.177-182, 2012.

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

GRANDJEAN, D.; VASSAIRE, J.; VASSAIRE, J. P. **Enciclopédia do Cão**. Paris: Aniwa Publishing, 2001. 635 p.

GUERREIRO L. **Dossiê Técnico**: Produtos Extrusados para Consumo Humano, Animal e Industrial. Rio de Janeiro: REDETEC - Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro, 2007.

GROESBECK, C. N. et al. Effect of crude glycerol on pellet mill production and nursery pig growth performance. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86,

n. 9, p. 2228-2236, 2008.

INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY. 1993. Disponível em: <<http://www.iupac.org>> Acesso em: 12 abr. 2012.

KIJORA, C.; KUPSCH, S. D. Evaluation of technical glycerols from "biodiesel" production as a feed component in fattening of pigs. **Lipid-Fett**, Leinfelden, v. 98, n. 7-8, p. 240-245, 1996.

KIRK, C. A.; DEBRAEKELEER, J.; ARMSTRONG, P. J. Normal cats. In: HAND, M. S. et al. **Small animal clinical nutrition**. 4. ed. Estados Unidos: Walsworth Publishing Company, 2000. p 293-303.

KOOLMAN, J.; RÖHM, K. H. **Color Atlas of Biochemistry**. New York: Thieme Stuttgart, 2005.

LAFLAMME, D. P. Cats and carbohydrates: Implications for health and disease **Compendium: Continuing Education for Veterinarians**, Yardley, v. 32, n. 1, p. 1-3, 2010.

LAGE, J. F. et al. Glicerina bruta na dieta de cordeiros terminados em confinamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 45, n. 9, p. 1012-1020. 2010.

LAMMERS, P. et al. **Energy value of crude glycerol fed to pigs**. Sheffield: Iowa State University Animal Industry Report, 2007. Disponível em: <<http://www.ans.iastate.edu/report/air/2007pdf/R2225.pdf>> Acesso em: 06 fev. 2013.

LAMMERS, P. J. et al. Growth performance, carcass characteristics, meat quality, and tissue histology of growing pigs fed crude glycerin supplemented diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, n. 11, p. 2962-2970, 2008.

LAMMERS, P. J. et al. Nitrogen-corrected apparent metabolizable energy value of crude glycerol for laying hens. **Poultry Science**, Champaign, v. 87, n. 1, p. 104-107, 2008a.

LAMMERS, P. J. et al. Digestible and metabolizable energy of crude glycerol for

growing pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, n. 3, p. 602- 608, 2008b.

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

LIN, M. H.; ROMSOS, D. R.; LEVEILLE, A. A. Effect of Glycerol on Lipogenic Enzyme Activities and on Fatty Acid Synthesis in the Rat and Chicken. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 106, n. 11, p. 1668-1677, 1976.

MAEDA, N. et al. Adaptation to fasting by glycerol transport through aquaporin 7 in adipose tissue. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 101, n. 51, p. 17801-17806, 2004.

MENTEN, J. F. M.; MIYADA, V. S.; BERENCHTEIN, B. Glicerol na alimentação animal. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 2008, Campinas. **Anais ...** Campinas: CBNA, 2008.

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

MOTA, C. J. A.; SILVA, C. X.; GONÇALVES, V. L. C. Gliceroquímica: novos produtos e processos a partir da Glicerina de produção de biodiesel. **Revista Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 639-648, 2009.

MOUROT, J. et al. Nutritional and physiological effects of dietary glycerol in the growing pig. Consequences on fatty tissues and post mortem muscular parameters. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 38, n. 3, p. 237-244. 1994.

NARAYAN, K.; MCMULLEN, J. The interactive effect of dietary glycerol and corn oil on rat liver lipids, serum lipids and serum lipoproteins. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 109, p. 1836-1846, 1979.

PACHAURI, N; HE, B. Value-added Utilization of Crude Glycerol from Biodiesel Production: A Survey of Current Research Activities. In: ASABE ANNUAL INTERNATIONAL MEETING, 9 - 12 July, 2006, Portland, Oregon: ASABE, 2006.
PAULE, B. J. A. **Glicerina, subproduto da indústria do biodiesel, perspectivas de uso na alimentação animal**. Brasília: Ministério de Agricultura, Pecuária e

Abastecimento (MAPA). Disponível em: <
http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/camaras_setoriais/Oleaginosas_e_biodiesel/10_reuniao/Apresentacao_Glicerina.pdf>. Acesso em: 2 fev. 2013.

PERRY, R. H.; GREEN, D. W. 1997. **Perry's Chemical Engineers' Handbook**. New York: P. McGraw-Hill, 2006. p. 39.

PEREIRA A. S.; FURUYA W. M. Valores De Energia Digestível De Diferentes Fontes De Glicerol Para Tilápia Do Nilo. In: ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA - UNICENTRO, 28 a 30 de outubro, 29., 2010, Guarapuava, PR. **Anais**. Guarapuava, PR: [s.n.], 2010.

PONCIANO NETO, B. **Uso de glicerina na alimentação de cães adultos**. 2011. 53 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2011.

RETORE, M. **Glicerina de biodiesel na alimentação de coelhos em crescimento**. 2010. 76 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2010.

ROBERGS, R. A.; GRIFFIN. S. E. Glycerol: biochemistry, pharmacokinetics and clinical and practical applications. **Sports Medicine**. n. 26, n. 3, p. 145-167, 1998.

ROSEBROUGH, R.W. et al. Effects of dietary energy substitutions on reproductive performance, feed efficiency and lipogenic enzyme activity on large white turkey hens. **Journal of Poultry Science**, Champaign, v. 59, n. 7, p. 1485-1492, 1980.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: Composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV. Departamento de Zootecnia, 2005. 186 p.

SAAD, F. M. O. B.; FERREIRA, W M, **Princípios nutritivos e exigências nutricionais de cães e gatos: parte I – energia, proteína, carboidratos e lipídeos**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2004. 180 p.

SANTOS, A. F. **Novas perspectivas da glicerina - Síntese de novos nitratos com propriedades farmacológicas e melhoradores de cetano**. 2011. 116 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, 2011. Disponível em:

<http://bdtd.biblioteca.ufpb.br/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=811>. Acesso em: 13 ago. 2012.

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS.
Manual SEBRAE 2007. Disponível em:
<http://www.biodiesel.gov.br/docs/Cartilha_Sebrae.pdf>. Acesso em: 12 fev. 2014.

SINDIRAÇÕES. **Boletim Informativo do Setor de Alimentação Animal/ Dezembro de 2013.** São Paulo. Disponível em: <http://sindiracoes.org.br/wp-content/uploads/2013/12/sindiracoes-boletim_dezembro_05122013_site.pdf>. Acesso em: 03 dez. 2013.

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

SUAREZ, P. A. Z. et al. Biocombustíveis a partir de óleos e gorduras: desafios tecnológicos para viabilizá-los. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 768-775, 2009.

TAO, R. C. et al. Glycerol: Its metabolism and use as an intravenous energy source. **Journal Parenteral Enteral Nutrition**, Thousand Oaks, Calif., v. 7, n. 5, p. 479-488, 1983.

TYSON, K. S. et al. **Biomass oil analysis:** research needs and recommendations. Technical Report. Colorado: National Renewable Energy Laboratory Golden, 2004. Disponível em: <<http://www.nrel.gov/docs/fy04osti/34796.pdf>>. Acesso em: 12 dez. 2013.

VASCONCELLOS, R. S. Uso de coprodutos na alimentação de cães e gatos In: CONGRESSO INTERNACIONAL E IX SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO, 2., 2010, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, 2010 p. 79.

YONG, K. C. et al. Characterization of glycerol residue from a palm kernel oil methyl ester plant. **Journal Oil Palm Research**. Malaysian, v. 13, n. 2, p. 39-42, 2001.

7. APÊNDICES

7.2. Normas da revista escolhida para publicação



ELSEVIER

ANIMAL FEED SCIENCE AND TECHNOLOGY

An International Scientific Journal Covering Research on Animal Nutrition, Feeding and Technology

AUTHOR INFORMATION PACK

ISSN: 0377-8401

DESCRIPTION

Animal Feed Science and Technology is a unique journal publishing scientific papers of international interest focusing on **animal feeds** and their **feeding**.

Papers describing research on feed for ruminants and non-ruminants, including **poultry, horses, companion animals** and **aquatic animals**, are welcome.

The journal covers the following areas: **Nutritive value** of feeds (e.g., assessment, improvement) Methods of **conserving** and **processing** feeds that affect their nutritional value **Agronomic** and **climatic** factors influencing the nutritive value of feeds **Utilization** of feeds and the improvement of such Metabolic, production, reproduction and **health responses**, as well as potential environmental impacts, of diet inputs and feed technologies (e.g., feeds, feed additives, feed components, mycotoxins) Mathematical models relating directly to **animal-feed interactions** Analytical and experimental methods for **feed evaluation** Environmental impacts of feed technologies in animal production. The journal does not encourage papers with emphasis on animal products, molecular biology, genetics for management, or the regulatory or legal aspects of feeds as well as animal production studies with a focus on animal nutrition that do not have a direct link to a feed or feed technology. Manuscripts must be prepared in accordance with the journal's Guide for Authors.

Before preparing their manuscript, it is suggested that authors examine the following editorials by the Editors-in-Chief: Editorial on terminology and analytical methods (Anim. Feed Sci. Technol. 118 (2005)

Editorial on experimental design and statistical criteria (Anim. Feed Sci. Technol. 129 (2006)

Editorial on general suggestions and guidelines (Anim. Feed Sci. Technol. 134 (2007) 181-188)

Editors comments on plagiarism (Anim. Feed Sci. Technol. 154 (2009) 292-293)

Editorial on review techniques and responding on editorial comments (Anim. Feed Sci. Technol. 155 (2010) 81-85)

Editorial on use of replicates in statistical analyses in papers submitted for publication in Animal Feed Science and Technology (Anim. Feed Sci. Technol. 171 (2012) 1-5)

AUDIENCE

Animal Scientists, Crop Scientists, Feed Manufacturers, Feed Additive Producers.

IMPACT FACTOR

2012: 1.608 © Thomson Reuters Journal Citation Reports 2013

GUIDE FOR AUTHORS

INTRODUCTION

Types of article

1. Original Research Papers (Regular Papers)
2. Review Articles
3. Short Communications
4. Book Reviews

Original Research Papers should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form.

Review Articles should cover subjects falling within the scope of the journal which are of active current interest.

A *Short Communication* is a concise but complete description of a limited investigation, which will not be included in a later paper. Short Communications should be as completely documented, both by reference to the literature and description of the experimental procedures employed, as a regular paper. They should not occupy more than six printed pages (about 12 manuscript pages, including figures, tables and references).

Book Reviews will be included in the journal on a range of relevant books which are not more than two years old. Book reviews will be solicited by the Book Review Editor. Unsolicited reviews will not usually be accepted, but suggestions for appropriate books for review may be sent to the Book Review Editor:

Professor G. Flachowsky
Federal Research Centre of Agriculture
Institute of Animal Nutrition
Bundesallee 50
D-38116 Braunschweig
Germany

Manuscripts describing the use of commercial feed products are welcome, but should include the following information: major components, contents of active ingredients (for example enzyme activities). Independent verification, as opposed to a manufacturers guarantee, is always desirable and often avoids difficulties in the review process, especially where there are no, or few, treatment impacts. The Editors reserve the right to reject any manuscript employing such products, wherein this information is not disclosed.

Submissions concerning feedstuff composition are welcome when published and/or accepted analytical procedures have been employed. However, unusual feedstuffs and/or a wide range of data are pre-requisites.

Submissions concerning NIRS may be suitable when more accurate, precise or robust equations are presented. Mathematical, technical and statistical advancement, may constitute the foundation for acceptance. For more details see the editorial in Vol. 118/3-4.

Contact details for submission

Authors should send queries concerning the submission process or journal procedures to AuthorSupport@elsevier.com. Authors can determine the status of their manuscript within the review procedure using Elsevier Editorial System.

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/journal-authors/ethics>.

Human and animal rights

If the work involves the use of animal or human subjects, the author should ensure that the work described has been carried out in accordance with The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans

AUTHOR INFORMATION PACK 26 Feb 2014 www.elsevier.com/locate/anifeedsci

<http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>; EU Directive 2010/63/EU for animal experiments - http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/legislation_en.htm; Uniform

Requirements for manuscripts submitted to Biomedical journals <http://www.icmje.org>. Authors should include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human subjects. The privacy rights of human subjects must always be observed.

Conflict of interest

All authors are requested to disclose any actual or potential conflict of interest including any financial, personal or other relationships with other people or organizations within three years of beginning the submitted work that could inappropriately influence, or be perceived to influence, their work. See also <http://www.elsevier.com/conflictsofinterest>. Further information and an example of a Conflict of Interest form can be found at: http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/286/p/7923.

Submission declaration

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/postingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere including electronically in the same form, in English or in any other language, without the written consent of the copyright-holder.

Changes to authorship

This policy concerns the addition, deletion, or rearrangement of author names in the authorship of accepted manuscripts: *Before the accepted manuscript is published in an online issue*: Requests to add or remove an author, or to rearrange the author names, must be sent to the Journal Manager from the corresponding author of the accepted manuscript and must include: (a) the reason the name should be added or removed, or the author names rearranged and (b) written confirmation (e-mail, fax, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Requests that are not sent by the corresponding author will be forwarded by the Journal Manager to the corresponding author, who must follow the procedure as described above. Note that: (1) Journal Managers will inform the Journal Editors of any such requests and (2) publication of the accepted manuscript in an online issue is suspended until authorship has been agreed.

After the accepted manuscript is published in an online issue: Any requests to add, delete, or rearrange author names in an article published in an online issue will follow the same policies as noted above and result in a corrigendum.

Subscription

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our access programs (<http://www.elsevier.com/access>)

- No Open Access publication fee

All articles published Open Access will be immediately and permanently free for everyone to read and download. Permitted reuse is defined by your choice of one of the following Creative Commons user licenses:

Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike (CC BY-NC-SA): for noncommercial purposes, lets others distribute and copy the article, to create extracts, abstracts and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), to include in a collective work (such as an anthology), to text and data mine the article, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation, and license their new adaptations or creations under identical terms (CC BY-NC-SA).

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND): for noncommercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

Elsevier has established agreements with funding bodies, <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

This ensures authors can comply with funding body Open Access requirements, including specific user licenses, such as CC BY. Some authors may also be reimbursed for associated publication fees. If you need to comply with your funding body policy, you can apply for the CC BY license after your manuscript is accepted for publication.

To provide Open Access, this journal has a publication fee which needs to be met by the authors or their research funders for each article published Open Access.

Your publication choice will have no effect on the peer review process or acceptance of submitted articles.

The publication fee for this journal is **\$2500**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <http://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's WebShop (<http://webshop.elsevier.com/languageediting/>) or visit our customer support site (<http://support.elsevier.com>) for more information.

Submission

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts source files to a single PDF file of the article, which is used in the peer-review process. Please note that even though manuscript source files are converted to PDF files at submission for the review process, these source files are needed for further processing after acceptance. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, takes place by e-mail removing the need for a paper trail.

Poorly written and/or presented manuscripts (relative to the journal's guidelines) may be returned to authors for upgrading by the editorial office, prior to a review for scientific merit.

Before preparing their manuscript, it is suggested that authors examine the editorial by the Editors-in-Chief in Vol. 134/3-4, which outlines several practices and strategies of manuscript preparation that the Editors-in-

Chief have found to be successful. This editorial also outlines practices that can lead to difficulties with reviewers and/or rejection of the manuscript for publication.

Submit your article: Please submit your article via <http://ees.elsevier.com/anifee/>

Referees

Please submit, with the manuscript, the names, addresses and e-mail addresses of three potential referees. Note that the editor retains the sole right to decide whether or not the suggested reviewers are used.

PREPARATION

Use past tense for current findings, and the present tense for "truths" and hypotheses.

Article Structure

Manuscripts should have **numbered lines**, with wide margins and **double spacing** throughout, i.e. also for abstracts, footnotes and references. **Every page of the manuscript, including the title page, references, tables, etc., should be numbered continuously.** However, in the text no reference should be made to page numbers; if necessary, one may refer to sections. Avoid excessive usage of italics to emphasize part of the text.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

If reference is made to AOAC, ISO or similar analytical procedure(s), the specific procedure identification number(s) must be cited. A number of references for neutral and acid detergent fibre (NDF, ADF) assays exist, and an alternative reference to the now out-of-print USDA Agriculture Handbook 379 must be used. There are many options for NDF and ADF assays (e.g. sodium sulfite, alpha amylase, residual ash), which must be specified in the text. For more details see the editorial in Vol. 118/3-4.

The following definitions should be used, as appropriate:

- a. aNDFom-NDF assayed with a heat stable amylase and expressed exclusive of residual ash.
- b. NDFom-NDF not assayed with a heat stable amylase and expressed exclusive of residual ash.
- c. aNDF-NDF assayed with a heat stable amylase and expressed inclusive of residual ash.
- d. NDF-NDF assayed without a heat stable amylase and expressed inclusive of residual ash.
- e. ADFom-ADF expressed exclusive of residual ash.

AUTHOR INFORMATION PACK 26 Feb 2014 www.elsevier.com/locate/anifeedsci 8

f. ADF-ADF expressed inclusive of residual ash.

g. Lignin (sa)-Lignin determined by solubilization of cellulose with sulphuric acid.

h. Lignin (pm)-Lignin determined by oxidation of lignin with permanganate.

While expressions of NDF and ADF inclusive of residual ash will continue to be acceptable (i.e., the terms aNDF, NDF and ADF above), the Editors-in-Chief highly recommend reporting all fibre values, including digestibilities, on an OM basis. Silica is partially soluble in ND, is quantitatively recovered in AD, and so may contribute to the 'fibre' values and to subsequent digestibility coefficients. Reporting 'hemicellulose' values as the difference between NDF and ADF is generally only acceptable if the analyses have been sequential on the same sample. Crude fibre (CF), nitrogen-free extract (NFE) and total digestible nutrients (TDN) are not acceptable terms for describing feeds and should only be referred to in a historical context.

Results: Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. Avoid extensive citations and discussion of published literature. Combined 'Results and Discussion' sections are only acceptable for 'Short Communications', except under compelling circumstances.

Conclusions: The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.

- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that phone numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address.**

- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

The abstract should be clear, descriptive and not longer than 400 words. It should contain the following specific information: purpose of study; experimental treatments used; results obtained, preferably with quantitative data; significance of findings; conclusions; implications of results if appropriate.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

AUTHOR INFORMATION PACK 26 Feb 2014 www.elsevier.com/locate/anifeedsci 9

Nomenclature and units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other quantities are mentioned, give their equivalent in SI. You are urged to consult IUB: Biochemical Nomenclature and Related Documents: <http://www.chem.qmw.ac.uk/iubmb/> for further information.

Authors and Editors are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the *International Code of Botanical Nomenclature*, the *International Code of Nomenclature of Bacteria*, and the *International Code of Zoological Nomenclature*. All botanica (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names when the English term is first used, with the exception of common domestic animals. All biocides and other organic compounds must be identified by their Geneva names when first used in the text. Active ingredients of all formulations should be likewise identified.

SI or SI-derived units should be used throughout (e.g. MJ and not Kcal for energy concentrations).

Concentrations should be expressed on a 'per kg' basis (w/w); however, w/v, v/v, mol/mol or M may be accepted depending on the circumstances. In addition, 'units' and 'equivalents' are acceptable. Normality should be avoided, as it may be ambiguous for certain acids. If analytical standards have been used, they should be specified by name (e.g. yeast RNA) and form (e.g. lactose monohydrate). Percents should only be used when describing a relative increase or decrease in a response. Proportions should be maximum 1.0 or ≤ 1.0 . For more details see the editorial in Vol. 118/3-4. Percent is *only* used to indicate relative changes. For composition, both w/w (often solids composition g/kg) and w/v (e.g. g/L), v/v (e.g. mL), mol/mol or M can be accepted depending on the circumstances. Specify units (e.g. g/L) and never as percent.

Digestibility/metabolisability and degradability should always be expressed as a coefficient (not %), and the content of, for example, the digestible component should be expressed as g/kg: thus, the coefficient of digestibility of dry matter is 0.8, while the content of digestible dry matter is 800g/ kg. A distinction between true and apparent digestibility should be made, as well as between fecal and ileal (e.g. coefficient of total tract apparent digestibility - CTTAD). The terms 'availability' and 'bioavailability' should be avoided without definition in context.

In chemical formulae, valence of ions should be given as, e.g. Ca²⁺, not as Ca⁺⁺. Isotope numbers should precede the symbols e.g. ¹⁸O. The repeated use of chemical formulae in the text is to be avoided where reasonably possible; instead, the name of the compound should be given in full.

Exceptions may be made in the case of a very long name occurring very frequently or in the case of a compound being described as the end product of a gravimetric determination (e.g. phosphate as P₂O₅).

Tables

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

References

All publications cited in the text should be presented in a list of references following the text of the manuscript. The manuscript should be carefully checked to ensure that the spelling of authors' names and dates are exactly the same in the text as in the reference list. The accuracy of the references is the responsibility of the author(s). References published in other than the English language should be avoided, but are acceptable if they include an English language 'Abstract' and the number of non-English language references cited are reasonable (in the view of the handling Editor) relative to the total number of references cited. In the text refer to the author's name (without initial) and year of publication, followed - if necessary - by a short reference to appropriate pages. Examples: "Since Peterson (1988) has shown that...". "This is in agreement with results obtained later (Kramer, 1989, pp. 12-16)".

If reference is made in the text to a publication written by more than two authors, the name of the first author should be used followed by "et al.". This indication, however, should never be used in the list of references. In this list names of first author and co-authors should be mentioned.

References cited together in the text should be arranged chronologically. The list of references should be arranged alphabetically on authors' names, and chronologically per author. If an author's name in the list is also mentioned with co-authors the following order should be used: publications of the single author, arranged according to publication dates - publications of the same author with one coauthor - publications of the author with more than one co-author. Publications by the same author(s) in the same year should be listed as 2001a, 2001b, etc.

Reference links

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is encouraged.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Reference formatting

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:

Reference style

Text: All citations in the text should refer to:

1. *Single author:* the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
2. *Two authors:* both authors' names and the year of publication;
3. *Three or more authors:* first author's name followed by 'et al.' and the year of publication. Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed first alphabetically, then chronologically.

Examples: 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999). Kramer et al. (2010) have recently shown'

List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51–59.

Reference to a book:

Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York. Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304.

References concerning unpublished data and "personal communications" should not be cited in the reference list but may be mentioned in the text.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations: <http://www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php>.

Submission checklist

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address
- Phone numbers

All necessary files have been uploaded, and contain:

- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked'
- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web)
- Color figures are clearly marked as being intended for color reproduction on the Web (free of charge) and in print, or to be reproduced in color on the Web (free of charge) and in black-and-white in print
- If only color on the Web is required, black-and-white versions of the figures are also supplied for printing purposes

For any further information please visit our customer support site at <http://support.elsevier.com>.

Additional Information

Authors should use the 'Track Changes' option when revising their manuscripts, so that any changes made to the original submission are easily visible to the Editors. Those revised manuscripts upon which the changes are not clear may be returned to the author. Specific comments made in the Author Comments in response to referees' comments must be organised clearly. For example, use the same numbering system as the referee, or use 2 columns of which one states the comment and the other the response.

AFTER ACCEPTANCE

Use of the Digital Object Identifier

The Digital Object Identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The assigned DOI never changes. Therefore, it is an ideal medium for citing a document, particularly 'Articles in press' because they have not yet received their full bibliographic information. Example of a correctly given DOI (in URL format; here an article in the journal *Physics Letters B*): <http://dx.doi.org/10.1016/j.physletb.2010.09.059> When you use a DOI to create links to documents on the web, the DOIs are guaranteed never to change.

AUTHOR INQUIRIES

For inquiries relating to the submission of articles (including electronic submission) please visit this journal's homepage. For detailed instructions on the preparation of electronic artwork, please visit <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Contact details for questions arising after acceptance of an article, especially those relating to proofs, will be provided by the publisher. You can track accepted articles at <http://www.elsevier.com/trackarticle>. You can also check our Author FAQs at <http://www.elsevier.com/authorFAQ> and/or contact Customer Support via <http://support.elsevier.com>.

© Copyright 2012 Elsevier | <http://www.elsevier.com>

ANEXO I. Tabela 5. Parâmetros bioquímicos e hematológicos dos animais testados recebendo os seguintes tratamentos: GLY0%, GLY2,5%, GLY5% e GLY10%.

Parâmetros	GLY 0%			GLY2,5%			GLY5%			GLY10%			Valores de Referência ¹
	<i>Primeira</i>	<i>Belinha</i>	<i>Pimenta</i>	<i>Matusquela</i>	<i>Sininho</i>	<i>Melissa</i>	<i>AOutra</i>	<i>Virginia</i>	<i>Demônia</i>	<i>Olivia</i>	<i>Úrsula</i>	<i>Medonha</i>	
	Resultados												
Albumina, g/L	26,61	28,75	24,23	25,9	28,17	26,73	25,58	26,36	22,82	25,75	22,36	18,82	21 - 33
ALT, U/L	37,52	48,79	66,16	26,35	57,14	40,47	31,18	99,47	37,18	16,49	62,13	70,68	< 83
Creatinina, mg/dL	1,33	1,39	1,57	1,32	1,34	1,65	1,46	1,38	1,36	1,37	1,79	1,17	0,8 - 1,8
Colesterol, mg/dL	67,12	128,6	83,41	87,43	71,43	80,91	92,38	106,5	113,3	57,71	114,2	80,26	95 - 130
Triglicérides, mg/dL	37,9	74,63	38,97	35,39	41,44	31,74	24,94	44,23	39,66	17,78	25,5	21,22	25 - 133
Proteína Total, g/L	77,96	81,75	87,45	67,34	75,94	71,54	68,09	85,38	81,73	76,06	80,69	85,15	54 - 78
Frutosamina, µmol/L	231,7	185,8	206,8	184,4	228,3	197,9	172,5	182,4	190,8	154,6	185,6	173,2	219 - 347
Leucócitos, µL	12700	18300	16600	14800	13800	14300	11000	14000	17500	18400	14700	12700	5000 -19500
Eritrócitos, x10 ⁶ /µL	9,19	11,4	9,39	8,76	9,29	10,3	8,25	9,91	6,08	6,97	7,61	10,1	5 - 10
Hemoglobina, g/dL	14,5	16,8	12,5	13,7	13,6	13,8	12,7	14,1	9,9	11,2	9,7	13	8,0 - 15,0
Hematócrito, %	46	50	37	41	40	40	37	42	31	35	30	38	24 - 45
Plaquetas, x10 ³ /µL	300	-	385	346	-	300	461	350	-	200	300	150	200 - 300
PPT, g/L	84	86	80	70	74	70	68	86	76	68	76	82	60 - 80

¹Valores de referência segundo Kaneko et al. (1997) e Jain (1993).- Amostra com agregação plaquetária.

VITA

Geruza Silveira Machado, filha de Altamiro Rodrigues Machado e Maria Elizabete Silveira Machado, nasceu em 19 de agosto de 1987, em Curitiba, PR. Durante o ensino médio, estudou no Colégio da URCAMP- Universidade da Região da Campanha, em São Gabriel, RS.

Graduou-se Zootecnista pela Universidade Federal de Santa Maria – UFSM - RS, em 2011, onde atuou na pesquisa na área de produção e nutrição de aves, com participação em projetos de pesquisa, com estágio extracurricular nesta área no Laboratório de Avicultura. Durante o curso foi monitora da disciplina de Melhoramento animal I e Melhoramento Animal II e participou da fundação do Grupo de Estudos em Nutrição de Animais de Companhia - GRENAC. Durante a graduação atuou no Diretório Acadêmico Octavio Domingues e participou da realização de eventos acadêmicos.

Em abril de 2012, iniciou seu Curso de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Faculdade de Agronomia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), na área de concentração nutrição de não ruminantes com ênfase em nutrição de cães e gatos sob orientação do professor Dr. Luciano Trevizan.