

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**MILHO OU POLPA CÍTRICA ASSOCIADOS À
GLICERINA NA ALIMENTAÇÃO DE BOVINOS DE CORTE
CONFINADOS**

Vanessa Ruiz Fávaro

Zootecnista

2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**MILHO OU POLPA CÍTRICA ASSOCIADOS À
GLICERINA NA ALIMENTAÇÃO DE BOVINOS DE CORTE
CONFINADOS**

Vanessa Ruiz Fávaro

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Jane Maria Bertocco Ezequiel

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Zootecnia

2014

F272m Fávoro, Vanessa Ruiz
Milho ou polpa cítrica associados à glicerina na alimentação de bovinos de corte confinados. / Vanessa Ruiz Fávoro. -- Jaboticabal, 2014
ix, 92 p.; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2014

Orientador: Jane Maria Bertocco Ezequiel

Banca examinadora: Márcia Helena Machado da Rocha Fernandes, Mauro Dal Secco de Oliveira, Leandro das Dores Ferreira da Silva, Fábio Prudêncio de Campos

Bibliografia

1. Nutrição. 2. Fibra solúvel. 3. Biodiesel. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.087.2:636.2

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CAMPUS DE JABOTICABAL

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

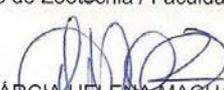
TÍTULO: MILHO OU POLPA CÍTRICA ASSOCIADOS À GLICERINA NA ALIMENTAÇÃO DE BOVINOS DE CORTE CONFINADOS

AUTORA: VANESSA RUIZ FAVARO

ORIENTADORA: Profa. Dra. JANE MARIA BERTOCCO EZEQUIEL

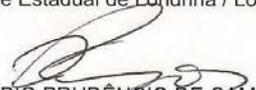
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM ZOOTECNIA , pela Comissão Examinadora:


Profa. Dra. JANE MARIA BERTOCCO EZEQUIEL
Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Profa. Dra. MÁRCIA HELENA MACHADO DA ROCHA FERNANDES
Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Prof. Dr. MAURO DAL SECCO DE OLIVEIRA
Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Prof. Dr. LEANDRO DAS DORES FERREIRA DA SILVA
Universidade Estadual de Londrina / Londrina/PR


Prof. Dr. FÁBIO PRUDÊNCIO DE CAMPOS
Instituto de Zootecnia / Nova Odessa/SP

Data da realização: 07 de fevereiro de 2014.

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

VANESSA RUIZ FÁVARO – nascida na cidade paranaense de Mandaguari, no dia 27 de dezembro de 1984. Iniciou em 2002 o curso de graduação em Zootecnia na Universidade Estadual de Maringá, Maringá/Pr, onde foi bolsista de iniciação científica do Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq). Obteve título de Zootecnista em fevereiro de 2007 e a partir de então trabalhou como bolsista de Apoio Técnico da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) na Universidade Estadual Paulista, câmpus de Jaboticabal. Ingressou no curso de Pós-graduação em março de 2008 na mesma instituição. Durante o mestrado foi bolsista do CNPq e no mês de fevereiro de 2010 defendeu dissertação e tornou-se Mestre em Zootecnia. Em março de 2010 iniciou o curso de Doutorado do Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, câmpus de Jaboticabal, onde foi novamente bolsista da FAPESP. No mês de fevereiro de 2014 defendeu a tese de Doutorado recebendo o título de Doutora em Zootecnia.

"Só existem dois dias no ano em que nada pode ser feito. Um se chama ontem, o outro se chama amanhã, portanto hoje é o dia certo para: amar, fazer, acreditar, e principalmente, viver"

Dalai Lama

"A vida é uma peregrinação imensamente bela, mas apenas para aqueles que estão dispostos a procurar e a buscar"

Osho

Dedico...

Aos meus pais Neide Ruiz Fávaro e Luiz José Fávaro

Por estarem sempre ao meu lado em minhas conquistas

AGRADECIMENTOS

À Deus por permitir mais essa conquista em minha vida,

À Prof.^a Dr.^a Jane Maria Bertocco Ezequiel pela dedicação, orientação, ensinamentos, amizade e confiança,

Aos Professores Doutores Fábio Prudêncio de Campos, Leandro das Dores Ferreira da Silva, Mauro Dal Secco de Oliveira, Márcia Helena Machado da Rocha Fernandes, Ana Claudia Ruggieri e Antônio Tadeu de Andrade pelas valiosas contribuições neste trabalho.

Aos meus pais Luiz e Neide e minha irmã Suélen, pelo total apoio e incentivo,

Ao meu namorado Fábio Alvarenga pelo incentivo, carinho e companheirismo em todas as horas,

À FCAV pela estrutura que tornaram meus experimentos possíveis de serem realizados,

Ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária da Unesp, Campus de Jaboticabal pela oportunidade,

À Fapesp pela bolsa de estudos,

A todos os funcionários do setor de Bovinocultura de Leite e Fábrica de Rações, pela amizade e ajuda concedida durante o experimento,

À Prof.^a Telma Teresinha Berchielli pelo empréstimo de suas instalações,

Aos professores e funcionários do Departamento de Zootecnia da Unesp, Câmpus de Jaboticabal, por todos ensinamentos nas disciplinas cursadas e pelo apoio e compreensão nos momentos em que precisei.

À Caramuru Alimentos pelo fornecimento da glicerina e casca de soja utilizados neste experimento,

Aos amigos da Unidade Animal de Estudos Digestivos e Metabólicos, Josimari, Marco Túlio, Henrique, André, Vanessa, Elisa, Antonio Carlos, Viviane e David pela ajuda na condução dos experimentos,

À estagiária Nathália Junqueira pela enorme ajuda no período de confinamento,

Aos amigos da Pós-graduação por tornarem cada momento mais alegre,

A todos que de alguma forma contribuíram com a realização desse trabalho.

Muito Obrigada

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	iv
LISTA DE FIGURAS	vii
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
INTRODUÇÃO.....	1
BIODIESEL E GLICERINA	2
GLICERINA NA ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES	5
POLPA CÍTRICA NA ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES	11
OBJETIVO GERAL	15
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
REFERÊNCIAS	15
CAPÍTULO 2 – CONSUMO, DIGESTIBILIDADE APARENTE E PARÂMETROS RUMINAIS DE BOVINOS ALIMENTADOS COM MILHO E POLPA CÍTRICA ASSOCIADOS À GLICERINA	23
RESUMO	23
INTRODUÇÃO	24
MATERIAL E MÉTODOS	26
Local de condução do experimento	26
Diets experimentais	26
Manejo dos animais e instalações	28
Consumo e digestibilidade aparente da matéria seca e nutrientes.....	28

pH, concentrações ruminais de nitrogênio amoniacal e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC).....	29
Produção de metano	30
Produção e qualidade da massa microbiana	31
Análise estatística	33
RESULTADOS	35
Consumo e digestibilidade da matéria seca e nutrientes.....	35
pH, concentrações ruminais de nitrogênio amoniacal e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC).....	37
Produção de metano	39
Produção e composição da massa microbiana	40
DISCUSSÃO	44
Consumo e digestibilidade da matéria seca e nutrientes.....	44
pH, concentrações ruminais de nitrogênio amoniacal e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC).....	46
Produção e composição da massa microbiana	50
CONCLUSÕES	52
REFERÊNCIAS.....	53
CAPÍTULO 3 – CONSUMO, DESEMPENHO, CARACTERÍSTICAS DA CARÇAÇA E DA CARNE DE BOVINOS ALIMENTADOS COM MILHO E POLPA CÍTRICA ASSOCIADOS À GLICERINA.....	60
RESUMO	60
INTRODUÇÃO	61
MATERIAL E MÉTODOS	62
Local de condução do experimento	62
Dietas experimentais	63

Manejo dos animais.....	63
Comportamento ingestivo	67
Análise estatística.....	68
RESULTADOS	68
Consumo e desempenho em confinamento	68
Características quantitativas da carcaça e qualitativas da carne.....	70
Parâmetros sanguíneos.....	74
Comportamento ingestivo	75
DISCUSSÃO	76
Consumo e desempenho em confinamento	76
Características quantitativas da carcaça e qualitativas da carne.....	78
Parâmetros sanguíneos.....	81
Comportamento ingestivo	82
CONCLUSÕES	84
CAPÍTULO 4 – IMPLICAÇÕES	92

LISTA DE TABELAS

Página

CAPÍTULO 2 - CONSUMO E DIGESTIBILIDADE APARENTE DA MATÉRIA SECA E NUTRIENTES E PARÂMETROS RUMINAIS DE BOVINOS ALIMENTADOS COM MILHO E POLPA CÍTRICA ASSOCIADOS À GLICERINA

Tabela 1. Matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), amido, fibra solúvel em detergente neutro (FSDN), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) dos ingredientes utilizados na formulação das dietas experimentais.....	27
Tabela 2. Porcentagem dos ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais (% MS).....	27
Tabela 3. Consumo de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra solúvel em detergente neutro (FSDN) e amido de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica associados à glicerina	36
Tabela 4. Coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca e nutrientes de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica associados à glicerina	36
Tabela 5. Médias dos valores de pH do líquido ruminal, nitrogênio amoniacal (N-NH ₃), concentrações de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e relação entre os ácidos acético e propiônico de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica associados à glicerina.	37

Tabela 6. Produção ruminal de gás metano (CH ₄) e gás carbônico (CO ₂) de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica associados à glicerina.....	40
Tabela 7. Produção e composição de bactérias líquido-associadas do rúmen de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica associados à glicerina.....	41
Tabela 8. Produção e composição de protozoários líquido-associados do rúmen de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica associados à glicerina.....	42
Tabela 9. Desdobramento da interação entre tratamento e tempo de colheita para a produção de nitrogênio dos protozoários líquido associados.....	42
Tabela 10. Produção e composição de bactérias sólido aderidas do rúmen de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica associados à glicerina.....	43
Tabela 11. Desdobramento da interação entre tratamento e tempo de colheita para o teor de matéria orgânica das bactérias sólido aderidas.....	44
CAPÍTULO 3 – CONSUMO, DESEMPENHO, CARACTERÍSTICAS DA CARÇAÇA E DA CARNE DE BOVINOS ALIMENTADOS COM MILHO E POLPA CÍTRICA ASSOCIADOS À GLICERINA	
Tabela 1. Matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), amido, fibra solúvel em detergente neutro (FSDN), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) dos ingredientes utilizados na formulação das dietas experimentais.....	63

Tabela 2. Porcentagem dos ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais (% MS).....	64
Tabela 3. Consumo de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) fibra solúvel em detergente neutro (FSDN) e amido de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica associados à glicerina	69
Tabela 4. Desempenho de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica associados à glicerina	70
Tabela 5. Características da carcaça de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica associados à glicerina	71
Tabela 6. Características da carne e da gordura de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica associados à glicerina	72
Tabela 7. Composição porcentual dos ácidos graxos do músculo <i>Longissimus</i> de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica associados à glicerina	73
Tabela 8. Quantidades totais de ácido graxos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados e relações entre insaturados e saturados do músculo <i>Longissimus</i> de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica associados à glicerina.....	74
Tabela 9. Parâmetros sanguíneos de bovinos alimentados com glicerina associada ao milho e polpa cítrica	74
Tabela 10. Comportamento ingestivo de bovinos alimentados com glicerina associada ao milho e polpa cítrica	75

LISTA DE FIGURAS

Página

CAPÍTULO 2 - CONSUMO E DIGESTIBILIDADE APARENTE DA MATÉRIA SECA E NUTRIENTES E PARÂMETROS RUMINAIS DE BOVINOS ALIMENTADOS COM MILHO E POLPA CÍTRICA ASSOCIADOS À GLICERINA

- Figura 1.** pH e N-NH₃ ruminais de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica em função dos tempos de colheita38
- Figura 2.** Concentrações ruminais dos ácidos graxos de cadeia curta de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica em função dos tempos de colheita39

MILHO OU POLPA CÍTRICA ASSOCIADOS À GLICERINA NA ALIMENTAÇÃO DE BOVINOS DE CORTE CONFINADOS

RESUMO - Objetivou-se nesse estudo avaliar os efeitos da associação da glicerina ao milho e polpa cítrica na dieta de bovinos da raça Nelore confinados sobre o consumo, digestibilidade, parâmetros ruminais (pH, nitrogênio amoniacal, ácidos graxos de cadeia curta, produção de gases e massa microbiana), desempenho em confinamento, características da carcaça e da carne, parâmetros sanguíneos e comportamento ingestivo. Cinco dietas foram fornecidas e denominadas de: CON - sem adição de glicerina; M10 – milho e 10% de glicerina; M15 – milho e 15% de glicerina; P10 – polpa cítrica e 10% de glicerina; P15 – polpa cítrica e 15% de glicerina. No primeiro experimento foram utilizados cinco bovinos providos de cânulas permanentes no rúmen, distribuídos em delineamento experimental quadrado latino (5 x 5). Nos tratamentos com polpa cítrica (P10 e P15) foram verificados menores consumos e digestibilidades da matéria seca, matéria orgânica, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido do que nos tratamentos com milho (M10 e M15). Para o tratamento controle houve menor produção do ácido butírico mas, maior produção de ácido acético e totais em relação aos tratamentos com glicerina. A relação acetato:propionato também foi maior no tratamento controle seguida dos tratamentos com polpa cítrica. Também foram observadas reduções nas produções das bactérias ruminais nos tratamentos com polpa cítrica, contudo sem afetar o pH e nitrogênio amoniacal ruminais nem a produção dos gases carbônico e metano. No segundo experimento, trinta bovinos foram confinados e distribuídos em delineamento experimental inteiramente casualizado no qual houve alterações no consumo de amido e fibra solúvel, contudo, sem afetar o desempenho, características da carcaça, nem o comportamento animal. A inclusão de glicerina provocou redução na intensidade de amarelo na carne e aumento no percentual dos ácidos graxos C15:0 e C17:1. Em relação aos parâmetros sanguíneos apenas os triglicerídeos foram influenciados pelos tratamentos. As concentrações de glicose e de gama-glutamil transferase (GGT) ficaram acima do sugerido pela literatura, os valores elevados provavelmente estão relacionados ao alto concentrado das dietas (70%), indicando sobrecarga no metabolismo hepático. A associação de até 15% de glicerina ao milho e polpa cítrica é viável uma vez que as alterações verificadas nas digestibilidades e nos microrganismos ruminais não foram suficientes para afetar o desempenho dos animais nem a qualidade da carcaça e da carne.

Palavras-chave: biodiesel, confinamento, coprodutos, microrganismos, rúmen

CORN GRAIN OR CITRUS PULP ASSOCIATED WITH GLICERYN IN FEEDLOT CATTLE

ABSTRACT - The objective of this study was to evaluate the association of glycerin to corn grain and citrus pulp in diets for Nelore cattle on intake, digestibility, ruminal parameters (pH, ammonia, short chain fatty acids, gas production and microbial mass), performance, characteristics of carcass and meat, blood parameters and feeding behavior. Five diets were provided and named: CON - without addition of glycerin; M10 - corn grain and 10% glycerin; M15 - corn grain and 15% glycerin; P10 - citrus pulp and 10% glycerin; P15 - citrus pulp and 15% glycerol. In the first experiment were used five cattle fitted with permanent rumen cannulas, distributed in Latin Square design (5 x 5). In treatments with citrus pulp (P10 and P15) were observed lower intake and digestibility of dry matter, organic matter, neutral detergent fiber and acid detergent fiber than in treatments with corn grain (M10 and M15). For the control treatment there was decreased production of butyric acid but greater production of acetic acid and totals compared to treatments with glycerin. The acetate:propionate ratio was also higher in the control treatment followed by treatment with citrus pulp. Were also observed decrease in the production of bacterial microorganisms, but without affecting the pH and ruminal ammonia neither the production of methane or dioxide carbon. In the second experiment, thirty cattle were confined and distributed in a completely randomized design. There were changes in the starch and soluble fiber intake, but, without affecting the performance, carcass characteristics, or animal behavior. The addition of glycerin caused reduction in the intensity of yellow in the meat, and increase in the percentage of fatty acids C15:0 and C17:1. About blood parameters only the triglycerides were influenced by the treatments. The concentrations of glucose and gamma-glutamyl transferase (GGT) were higher than suggested by the literature, the high values are probably related to the high concentrate diets (70%), indicating overload in hepatic metabolism. The association of up to 15% glycerin to corn and citrus pulp is viable since the changes in digestibility and rumen microorganisms were not enough to affect the animal performance neither the quality of carcass or meat.

Key-words: biodiesel, byproducts, feedlot, microorganism, rumen

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

INTRODUÇÃO

A produção mundial de biodiesel tem crescido exponencialmente nos últimos anos, levando ao aumento dos estoques de glicerina. Este subproduto possui grande potencial de uso, mas quando sem destino correto é considerado um resíduo com custos de armazenamento e descarte para a indústria (YAZDANI & GONZÁLEZ, 2007). A crescente disponibilidade de glicerina bruta da indústria do biodiesel levou a um interesse em sua utilização como fonte energética em rações.

Na alimentação animal, a glicerina tem sido utilizada com eficiência na prevenção de cetose em vacas de alta produção de leite (FISCHER et al., 1973; DeFRAIN et al., 2004) e avaliada em diferentes espécies, como suínos (LAMMERS et al., 2008b; KERR et al., 2009), aves (DOZIER et al., 2008; LAMMERS et al., 2008a), cordeiros (GUNN et al., 2010; GOMES et al., 2011) e bovinos de corte (PYATT, DOANE & CECAVA, 2007; PARSONS, SHELOR & DROUILLARD, 2009).

Do ponto de vista nutricional, a glicerina é considerada fonte alimentar energética alternativa e promissora na produção animal, particularmente para ruminantes por ser convertida principalmente a propionato no rúmen, atuando como precursor para a síntese de glicose no fígado (HALES et al., 2013). As publicações sobre a inclusão de glicerina como macroingrediente na dieta de bovinos de corte se concentram, em sua maioria, na avaliação de concentrações crescentes de glicerina na MS da dieta sobre o desempenho, qualidade de carne e fermentação ruminal (MACH, BACH & DEVANT, 2009; PARSONS, SHELOR & DROUILLARD, 2009; HALES et al., 2013).

O impacto da glicerina na digestão da fibra tem sido objeto de estudo de vários grupos de pesquisa e alguns estudos indicaram que a inclusão de glicerina em dietas de ruminantes causa prejuízos no aproveitamento da fração fibrosa pelos animais (PAGGI, FAY & FAVERI 2004; DONKIN, 2008; PARSONS, SHELOR,

DROUILLARD, 2009; ABO EL-NOR et al., 2010; PARSONS & DROUILLARD, 2010). A digestão da fibra é de particular relevância em dietas suplementadas com glicerina, os efeitos inibitórios nas atividades de bactérias celulolíticas e fungos são evidentes (DROUILLARD, 2012).

A partir dessas informações, foi verificado que na maioria dos trabalhos publicados a glicerina foi utilizada em substituição ao milho das dietas (PYATT, DOANE & CECAVA, 2007; MACH, BACH & DEVANT, 2009; PARSONS, SHELOR & DROUILLARD, 2009; ABO EL-NOR et al., 2010; GUNN et al., 2010; GOMES et al., 2011) e os resultados ainda são contraditórios principalmente em relação à fermentação ruminal, portanto o padrão de fermentação da glicerina ainda não está completamente elucidado. Além disso, na literatura não há trabalhos avaliando a utilização de glicerina em rações contendo polpa cítrica.

A polpa cítrica apresenta alto teor de pectina, um polissacarídeo não amídico que é componente da parede celular, mas se comporta como um carboidrato não estrutural, tendo rápida e extensiva degradação pelos microrganismos do rúmen. Quando se trata de produtos finais da fermentação, a pectina assemelha-se aos carboidratos estruturais, proporcionando uma concentração de ácidos graxos de cadeia curta similar a dietas contendo níveis significativos de volumosos (HENRIQUE et al., 2003). Devido à presença da pectina, a polpa cítrica proporciona um ambiente ruminal mais propício à degradação da fração fibrosa da dieta do que o milho em grão, que é rico em amido (FEGEROS et al., 1995), e sua capacidade tamponante possibilita maiores taxas de crescimento microbiano, principalmente de bactérias celulolíticas (CLARK et al., 1992). A hipótese para esse estudo é que, a polpa cítrica pode melhorar o ambiente ruminal e promover melhor digestibilidade da fração fibrosa quando a glicerina é incluída.

BIODIESEL E GLICERINA

A crescente preocupação com o meio ambiente, aliada à busca por fontes alternativas de energia renováveis, tem colocado o biodiesel no centro das atenções e interesses (ABDALLA, 2008). A demanda por energia mundial ocorre

principalmente pelo uso de recursos energéticos convencionais como carvão, petróleo e gás natural. Estudos mostram que os combustíveis fósseis em consumo constante se esgotarão em aproximadamente 40 anos. Além disso, a combustão de grande quantidade de carbono proveniente dos combustíveis fósseis, leva a um acúmulo de gases de efeito estufa ocasionando o aquecimento global com graves consequências para o clima mundial.

A preocupação sobre o uso de recursos fósseis, seu custo, disponibilidade e constante impacto no aquecimento global nos remetem a fontes de energia renováveis. Nos últimos anos o mercado de biocombustíveis vem se expandindo devido ao enfoque aos fatores ambientais e às alterações no valor do petróleo. Dentre os principais biocombustíveis, destacam-se o etanol e o biodiesel, este utilizado em grande escala em motores de caminhões, ônibus e tratores (LIMA, 2007).

Desde 1º de janeiro de 2010, todo óleo diesel comercializado no Brasil contém 5% de biodiesel. Esta regra foi estabelecida pela Resolução nº 6/2009 do Conselho Nacional de Política Energética (CNPE), publicada em 26 de outubro de 2009, que aumentou de 4% para 5% o percentual obrigatório de mistura de biodiesel ao óleo diesel (ANP, 2014). O Brasil está entre os maiores produtores e consumidores de biodiesel do mundo, com produção anual em 2013, de mais de 2,7 bilhões de litros (ANP, 2014) e sua produção é proveniente de diversas espécies vegetais, atualmente a produção está cada vez mais dependente das produtoras de óleo vegetal. Espécies como a mamona, palma, girassol, babaçu, amendoim, pinhão manso e soja, podem ser utilizadas no processo produtivo, sendo que a produção por matéria prima corresponde principalmente ao uso da soja (81%) e em menores escalas o caroço de algodão 8%, 5% ao sebo, 4% à palma, 2% à mamona e 1% ao girassol (ABDALLA, 2008).

Com relação à importância do biodiesel no cenário atual, destaca-se sua contribuição para a conservação do meio ambiente, por diminuir o efeito estufa por meio da menor emissão de gases (CARVALHO, 2011). Além disso, pela ausência de enxofre em sua composição, sua queima não provoca emissão de óxidos de enxofre (SO_2 e SO_3), que são considerados poluentes e responsáveis pela chuva ácida (MOTA et al., 2009). Deve-se, ainda, levar em conta que os preços da

gasolina, diesel e derivados de petróleo tendem a aumentar, já que anualmente o consumo se eleva e as reservas naturais diminuem. Há também os problemas políticos, guerras e crises internacionais, com conseqüente elevação do preço do barril de petróleo.

A produção brasileira do biodiesel cresce exponencialmente, decorrente da implementação de incentivos fiscais e da pressão de grupos ambientalistas para o uso de combustíveis renováveis. Isso permitiu que os preços do biodiesel fossem competitivos frente aos combustíveis derivados do petróleo. O biodiesel é fabricado através de um processo químico chamado transesterificação onde a glicerina é separada da gordura ou do óleo vegetal. Entretanto o grande volume de glicerina gerado pode prejudicar o aspecto ecológico do biodiesel. Aplicações dos coprodutos gerados a partir do biodiesel são essenciais para o aumento da produção do biodiesel viabilizando-o economicamente.

Pelas técnicas atualmente utilizadas, Carvalho et al. (2010) relataram que a produção de glicerina corresponde, a aproximadamente, 10% do volume total de biodiesel. Com isso, estima-se que com a adição de 5% de biodiesel ao óleo diesel a produção anual de glicerina será de aproximadamente 270 milhões de litros (ANP, 2014). A dificuldade de acomodação do excedente de glicerina se agrava porque a glicerina resultante da produção de biodiesel tem características diferentes da utilizada na indústria de higiene e cosmética. A forma obtida no processo de produção de biodiesel contém quantidades variáveis de glicerol, catalisador, sabões, água e álcool, normalmente metanol (THOMPSON & HE, 2006). Somente depois de purificada a substância pode ser utilizada na área de química fina e no setor alimentício. Apesar de a glicerina purificada ser um composto valioso industrialmente, a purificação pode ser antieconômica e insuficiente para consumir o crescimento projetado na produção mundial de glicerina proveniente da indústria do biodiesel.

Vários tipos e designações de glicerina estão disponíveis comercialmente, diferindo quanto ao conteúdo de glicerol e outras características como: cor, odor e impurezas. O termo glicerina refere-se ao glicerol na forma comercial, com pureza acima de 95%. É conhecida também como glicerol ou 1,2,3 propanotriol é um composto orgânico pertencente à função química álcool, líquido à temperatura

ambiente (25°C), higroscópico, inodoro, viscoso e de sabor adocicado (IUPAC, 1993).

A glicerina bruta é definida como a glicerina separada do biodiesel, sem sofrer qualquer tipo de purificação, apresenta-se na forma de líquido viscoso pardo escuro. As características físicas, químicas e nutricionais do glicerol bruto dependem do tipo de ácido graxo (gordura animal ou óleo vegetal) e do tipo de catálise empregada na produção de biodiesel (RIVALDI et al., 2007). A chamada glicerina loura é normalmente utilizada para designar a glicerina oriunda dos processos de produção de biodiesel, onde a fase glicerínica sofreu tratamento ácido para neutralização do catalisador e remoção de ácidos graxos eventualmente formados no processo. Em geral, essa glicerina contém cerca de 80% de glicerol, além de água, álcool e sais dissolvidos (VERONESE et al., 2009) e apresenta coloração mais clara que a glicerina bruta. Nas plantas de produção de biodiesel no Brasil, o álcool utilizado é o metanol, assim como o catalisador mais utilizado é o hidróxido de sódio.

O crescente aumento da inclusão de biodiesel ao óleo diesel torna a glicerina um ingrediente com potencial para utilização na alimentação animal visto o acúmulo desse subproduto nas usinas e boa disponibilidade em todo país e, sua utilização como fonte de energia na dieta dos animais ruminantes, pode aumentar a eficiência financeira da produção de biodiesel. Outra vantagem da utilização de glicerina nas dietas de ruminantes seria reduzir a poluição do ambiente. Segundo Trabue et al. (2007), o fornecimento de glicerina bruta tende a reduzir a quantidade de carbono e hidrogênio disponível para produção de gás metano, pelo aumento da síntese de propionato, com consequente melhoria na eficiência de utilização da energia pelo animal. Além disso, o glicerol presente na glicerina possui natureza higroscópica que pode aumentar a capacidade de retenção de água das rações em ambientes de baixa umidade e melhorar a palatabilidade do concentrado por causa de seu aroma suave e sabor adocicado (ELAM et al., 2008). Todavia, essas vantagens devem ser testadas e analisadas por meio de ensaios experimentais.

GLICERINA NA ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES

Em maio de 2010, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) autorizou o uso da glicerina como insumo para alimentação animal e estabeleceu um padrão mínimo de qualidade: glicerol (mínimo de 800 g/kg); umidade (máximo 130 g/kg); metanol (máximo 159 mg/kg), sódio e matéria mineral (valores garantidos pelo fabricante g/kg), podendo variar de acordo com o processo produtivo.

Doppenberg & Van Der Aar (2007) destacaram que a preocupação principal com o uso da glicerina bruta na alimentação animal é o conteúdo de metanol que permanece após processamento. De acordo com a *Food and Drug Administration* (FDA, 21 C.F.R. 582.1320, 2006) a glicerina tem seu uso seguro e reconhecido na alimentação animal (status GRAS: geralmente reconhecido como seguro), no entanto, o teor de metanol presente na glicerina deverá ser levado em consideração, não devendo ultrapassar 150 mg/kg. Avaliações recentes da glicerina obtida da produção de biodiesel a partir do grão de soja indicam que esta possui em média 76,2% de glicerol, 7,98% de gordura, 0,05% de proteína e 2,73% de matéria mineral dos quais 11 mg/kg são Ca, 6,8 mg/kg de Mg, 53 mg/kg de P e 1,2% de Na (THOMPSON & HE, 2006). Já o conteúdo de metanol em amostras de glicerina bruta nos Estados Unidos variou de 100 a 11500 mg/kg (DASARI, 2007).

Componente do metabolismo normal dos animais, o glicerol é encontrado na circulação sanguínea e nas células. Apresenta três origens distintas, podendo ser a partir da lipólise no tecido adiposo, a partir da hidrólise dos triglicerídeos das lipoproteínas do sangue e através da gordura dietética (LIN, 1977). O glicerol é o precursor do gliceraldeído-3-fosfato, um intermediário na lipogênese no tecido adiposo e da gliconeogênese no fígado, fornecendo também energia pela via glicolítica e do ciclo do ácido cítrico (BRISSON et al., 2001). O glicerol também é componente principal da biossíntese de triglicerídeos podendo ser incluído nos triglicerídeos como reserva no tecido adiposo ou nos fosfolipídios de membrana (LEHNINGER, 2011).

A utilização da glicerina na alimentação animal tem sido objeto de estudo de vários grupos de pesquisa e concentram-se principalmente na avaliação do desempenho animal. A literatura aponta diversos resultados contraditórios em relação a utilização de glicerina como macroingrediente em dietas de ruminantes,

contudo é importante levar em consideração a composição da glicerina e os demais ingredientes utilizados na dieta. De maneira geral, as pesquisas indicam que a utilização de até 10% de glicerina nas dietas é viável na produção de ruminantes, principalmente na substituição do milho nas rações.

Pyatt, Doane & Cecava (2007), utilizando dietas com alto concentrado (85%) e volumoso à base de silagem de milho na terminação de novilhos cruzados, observaram redução no consumo de matéria seca de 10,1% ao substituir 10% do milho por glicerina na dieta entretanto, verificaram maiores ganhos de peso e melhor conversão alimentar para os animais que receberam esse ingrediente.

Parsons, Shelor & Drouillard (2009), avaliando dietas com concentrado à base de milho e farelo de soja (94%) e feno de alfafa como volumoso, forneceram 0, 2, 4, 8, 12 ou 16% de glicerina em substituição ao milho da dieta de novilhas de corte em terminação observaram redução no consumo de matéria seca para os animais que receberam concentrações a partir de 2% de glicerina. Mesmo com a redução no consumo a inclusão de glicerina proporcionou maior ganho de peso e melhor eficiência alimentar nos animais que consumiram dietas com até 8% de glicerina.

Mach, Bach & Devant (2009) em estudo sobre a fermentação ruminal, desempenho e qualidade de carne de novilhos leiteiros confinados avaliaram os efeitos da glicerina nas concentrações 0, 4, 8 ou 12% em substituição aos grãos de cevada no concentrado, e volumoso composto por palha de cevada com consumo à vontade. Os autores observaram redução no pH ruminal de animais alimentados com 8% de glicerina e não observaram efeitos sobre as concentrações molares de ácidos graxos de cadeia curta nem sobre o consumo de matéria seca. Os autores concluíram que a glicerina pode ser utilizada como fonte energética substituindo cereais nas dietas de animais em terminação em concentrações de até 12%, sem afetar o desempenho e qualidade de carne. Esses resultados indicam que o fornecimento de glicerina pode melhorar a eficiência de animais alimentados com dietas com elevadas quantidades de alimentos concentrados.

Em estudos com cordeiros os resultados também indicaram a viabilidade da utilização de glicerina, entretanto concentrações acima de 15% da MS ainda necessitam mais avaliações. Gunn et al. (2010) utilizaram 0, 15, 30 ou 45% de glicerina (89,53% de glicerol, 14,2% de água, <0,005% de metanol, 5,65% de cinzas,

5,38% de sódio e 0,41% de proteína bruta) em substituição ao milho na MS da dieta. As dietas continham 90% de concentrado e o volumoso utilizado foi o feno de alfafa os autores avaliaram o desempenho e característica da carcaça de cordeiros mestiços. Foi observado que concentrações de até 15% não diferiram do tratamento controle (sem adição de glicerina), entretanto cordeiros que receberam 30 e 45% de glicerina apresentaram, redução no consumo de matéria seca, queda no desempenho e redução na espessura de gordura de cobertura. O acetato é um importante precursor da lipogênese e a redução na espessura de gordura pode estar relacionada à redução na relação acetato:propionato no rúmen, em animais alimentados com glicerina, observada previamente por alguns pesquisadores (SCHRÖDER & SÜDEKUM 1999, DEFRAIN et al., 2004).

Em contrapartida, Gomes et al. (2011), avaliaram o desempenho em confinamento e características da carcaça de cordeiros Santa Inês recebendo dietas contendo 15 e 30% de glicerina na MS em substituição ao milho da dieta. A composição da glicerina foi semelhante à utilizada nesta pesquisa (83,15% de glicerol, 6% de água, 120 ppm de metanol, 7,4% de cinzas, 1,3% de sódio, 0,12% de proteína bruta, 0,0691% de cálcio e 0,0053% de fósforo), o concentrado foi composto por milho grão e farelo de soja, o volumoso foi o feno de aveia, estabelecendo relação volumoso:concentrado de 40:60. Os autores observaram que a glicerina pode ser usada em dietas de terminação de cordeiros em valores de até 30% da matéria seca, sem causar qualquer efeito prejudicial sobre o desempenho ou características de carcaça de cordeiros confinados.

Também foram desenvolvidos trabalhos avaliando a fermentação ruminal da glicerina. Krehbiel (2008) relata que cerca de 13% do glicerol que chega ao rúmen desaparece por passagem com a digesta, 44% por fermentação e 43% por absorção pela parede. Estudos *in vitro* sugerem que bactérias da espécie *Selenomonas ruminantium* são as grandes responsáveis pela fermentação do glicerol no rúmen, com conseqüente produção de propionato, succinato, lactato e acetato (HOBSON & MANN, 1961). No fígado, o destino do glicerol absorvido é a oxidação pela via glicolítica, através da enzima glicerol quinase (LIN, 1977). Entretanto, quando há alta demanda de glicose, como no caso de vacas em lactação o destino do glicerol passa a ser a gliconeogênese tendo o propionato como precursor (DONKIN, 2008).

A digestão da fibra é de particular relevância em dietas suplementadas com glicerina pois, alguns estudos indicaram que a inclusão de glicerina em dietas de ruminantes causa alteração na microbiota ruminal e prejuízos no aproveitamento da fração fibrosa pelos animais (PAGGI, FAY & FAVERIN, 2004; DONKIN, 2008; PARSONS & DROUILLARD, 2010). Schneider (2010) trabalhando com novilhas mestiças alimentadas com dietas cujo volumoso foi a silagem de milho (60% da MS) e inclusão de 0, 4 ou 8% de glicerina na dieta total, observou decréscimo linear nas digestibilidades da MS, MO e FDN. Dessa forma a formulação de diferentes dietas pode modificar o padrão de fermentação ruminal causando alterações ou não nas variáveis estudadas.

Roger et al. (1992) observaram reduções no crescimento e na degradação da celulose por bactérias celulolíticas e fungos em estudo *in vitro* quando os meios continham 5 e 50 g/kg de glicerina, respectivamente e Abo El-Nor et al. (2010) observaram redução na digestibilidade da FDN e na concentração de DNA das bactérias *Butyrivibrio fibrosolvens* e *Selenomonas ruminantium* com o aumento na concentração de glicerina na dieta de vacas da raça Holandesa. As bactérias *B. fibrosolvens* estão relacionadas com a degradação da celulose e hemicelulose da dieta enquanto que as *S. ruminantium* com a degradação de amido e açúcares solúveis no rúmen (ARCURI, LOPES & CARNEIRO, 2006). Os efeitos inibitórios nas atividades de bactérias celulolíticas e fungos, em animais que receberam glicerina em sua dieta, são evidentes proporcionando explicação plausível para as reduções na digestão da fibra, frequentemente observadas *in vitro* e *in vivo* (DROUILLARD, 2012). Entretanto, o mecanismo não está completamente elucidado, pois a sensibilidade dos microrganismos ruminais pode variar de acordo com o nível de inclusão de glicerina na dieta. Além disso, a glicerina também pode interferir na adesão bacteriana às partículas de alimento (ROGER et al., 1992).

Nos últimos anos diversos trabalhos avaliaram a produção de metano ruminal de animais que receberam glicerina na dieta. No rúmen o glicerol é fermentado principalmente à propionato. Considerando a relação inversa entre a produção de CH₄ e propionato, sugere-se que o glicerol possa contribuir para a redução da produção de CH₄ no rúmen (LEE et al., 2011).

Lee et al. (2011) avaliaram a fermentação ruminal e a produção de metano *in vitro* do glicerol (99% de pureza) e a associação deste com feno de alfafa e grão de milho (0,5g do ingrediente + 0,1g de glicerol). O líquido ruminal foi obtido de novilhos da raça Holandesa e foram avaliados produção total de gás, produção de metano, pH ruminal, concentração de amônia e ácidos graxos de cadeia curta. Os autores observaram que ao adicionar glicerol ao feno de alfafa ou milho grão ocorreu redução na produção total de gases e de metano após 24h de incubação. A adição de glicerol também promoveu aumento na produção de propionato, redução na produção de acetato e consequentemente decréscimo da relação acetato:propionato.

Avila-Stagno et al. (2011) avaliaram a produção *in vitro* de gás metano e a fermentação de dietas com 0, 7, 14 ou 21% de glicerol (99% de pureza). O substrato utilizado para a incubação foi uma mistura de grão de cevada e silagem de cevada na proporção de 50:50 (base da MS) sendo o grão de cevada substituído pelas quantidades equivalentes de glicerina na dieta. O líquido ruminal foi obtido de vacas canuladas. Amostras colhidas após 24 e 48 h de incubação foram utilizadas para determinação da concentração de CH₄. Tanto a produção cumulativa dos gases quanto a análise qualitativa não diferiram entre os tratamentos. A produção total de ácidos graxos de cadeia curta não foi alterada, contudo houve aumento linear na produção de propionato e redução no acetato resultando no decréscimo da relação acetato:propionato. Assim, considerando a relação inversa entre propionato e metano esperava-se redução na produção de metano fato que não ocorreu.

Em avaliação *in vivo*, Avila-Stagno et al. (2013) estudaram a produção de metano e a digestibilidade dos nutrientes em cordeiros recebendo níveis crescentes de glicerina na dieta (0, 7, 14 e 21% da MS) em substituição ao grão de cevada. Os autores verificaram que o acréscimo de glicerina na dieta não alterou a digestibilidade dos nutrientes (MS, PB, FDN e FDA) nem a produção de gás metano concordando com os resultados das avaliações *in vitro* previamente realizadas (AVILA-STAGNO et al., 2011).

Na maioria dos trabalhos publicados avaliando a inclusão de glicerina como macro ingrediente na dieta, esta é acrescentada em substituição ao milho e ainda apresenta divergências em relação aos resultados obtidos. A associação da glicerina

a ingredientes ricos em fibra solúvel, como a polpa cítrica, precisa ser investigada, pois segundo Henrique et al., (2003) a polpa cítrica pode representar uma importante fonte de energia para os animais ruminantes e trazer benefícios ao ambiente ruminal, sem reduzir drasticamente o pH, proporcionando melhor aproveitamento da FDN dos alimentos volumosos.

POLPA CÍTRICA NA ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES

A polpa cítrica é um subproduto da indústria de produção do suco de laranja, obtida pelo aproveitamento dos resíduos sólidos (bagaço, casca e semente) (BERNARDES, 2003). Através de um processo de prensagem e secagem, reduz-se a umidade ao redor de 11%, quando então a polpa cítrica é peletizada para facilitar seu manuseio, conservação e estocagem (CARVALHO, 1995). Além disso, adiciona-se hidróxido ou óxido de cálcio antes das prensagens para facilitar o desprendimento da água e reduzir a natureza hidrofílica da pectina, carboidrato encontrado na parede celular desse alimento.

A polpa cítrica tem sido largamente utilizada no Brasil, entretanto sua associação com glicerina ainda não foi estudada. A literatura aponta teores de aproximadamente 80% de nutrientes digestíveis totais para a polpa cítrica, indicando valor energético 13% menor que o grão de milho (NRC, 1996). Entretanto a polpa cítrica parece proporcionar melhor padrão de fermentação ruminal que o milho, devido ao menor conteúdo de amido e maior concentração de pectina (VAN SOEST, 1994), compensando o menor valor energético.

A busca crescente por alternativas de ingredientes para alimentação animal visa a substituição de fontes energéticas e proteicas que permitem reduzir o custo das rações em momentos críticos enfrentados pela atividade de produção. Dessa forma, a indústria citrícola apresenta grande potencial no que diz respeito à utilização de seus subprodutos, uma vez que estes deixam de configurar como problemas ambientais para se tornarem boas fontes de energia para ruminantes (SARTURI, 2008).

Quando incluída na dieta de ruminantes, a polpa cítrica estimula a produção de ácido acético em detrimento à produção de ácido láctico e diminui a queda do pH ruminal (WING et al., 1988). Desse modo, pode ser utilizada estrategicamente em substituição ao milho em rações com alto teor de concentrado com o intuito de reduzir os riscos de acidose ruminal. Além das qualidades nutricionais da polpa cítrica, a época de produção é extremamente favorável, pois a safra inicia-se em maio e termina em janeiro, abrangendo justamente a entressafra de grãos como o milho e o período de escassez de forragem. Dessa maneira, o produtor passa a contar com mais um suplemento energético exatamente nos meses em que o milho atinge cotação máxima e os pastos, níveis mínimos de utilização.

A polpa cítrica é considerada um alimento intermediário entre volumoso e concentrado por apresentar elevada quantidade de fibra solúvel em sua composição bromatológica (FEGEROS et al., 1995). Pela presença de pectina na composição de sua parede celular, a polpa cítrica possui maior degradabilidade ruminal do que o amido e de que outros carboidratos estruturais presentes (STROBEL & RUSSEL, 1986; HATFIELD, 1987; BEN-GHEDALIA et al., 1989). Os alimentos concentrados ricos em fibra solúvel em detergente neutro podem representar uma importante fonte de energia para os animais ruminantes. Além disso, a utilização destes alimentos para nutrição de monogástricos é limitada, já que estes animais não produzem enzimas capazes de digerir os carboidratos encontrados na fibra solúvel em detergente neutro.

A maioria dos sistemas de avaliação de alimentos para alimentação animal separa os carboidratos em apenas dois grupos: os fibrosos, que correspondem àqueles não solúveis em detergente neutro (celulose e a hemicelulose), que juntos com a lignina, formam a fibra em detergente neutro (FDN); e os carboidratos não fibrosos, que correspondem àqueles carboidratos solúveis em detergente neutro. No entanto este último grupo é muito heterogêneo, tanto em sua composição quanto em seu valor nutricional e são constituídos por monossacarídeos, dissacarídeos, oligossacarídeos, amido, frutanas, como também por carboidratos presentes na parede celular das plantas como as substâncias pécticas, β -glucanas e galactanas. Esses últimos são os componentes da fibra solúvel em detergente neutro, sendo

assim denominado por não serem digeridos pelas enzimas digestivas dos mamíferos e exclusivamente pelas enzimas dos microrganismos (HALL, 2000).

Animais criados em sistemas de confinamento normalmente recebem dietas contendo altos teores de grãos que possuem elevadas concentrações de carboidratos solúveis de rápida fermentação ruminal, como o amido, podendo provocar redução significativa no pH ruminal e na digestão da fibra, que por sua vez pode reduzir a ingestão de alimentos (HOOVER, 1986), e causar distúrbios digestivos. Por outro lado, alimentos ricos em pectina, promovem padrão de fermentação ruminal semelhante a dieta à base de volumoso, não produzindo quantidades significativas de ácido lático, mantendo assim o pH ruminal próximo à neutralidade (STROBELL & RUSSELL, 1986), proporcionando condição ruminal mais favorável para a digestão da fibra (BEN-GHEDALIA et al., 1989) em comparação a monossacarídeos, dissacarídeos e amido. Estas diferenças demonstraram que as características fermentativas dos carboidratos solúveis em detergente neutro são variáveis e poderiam ser estudadas separadamente, pois diversas interações podem ser esperadas entre os diferentes tipos de carboidratos solúveis em detergente neutro e a degradação dos nutrientes, o que pode refletir no desempenho de animais confinados.

A fibra solúvel em detergente neutro pode ser obtida por diferença, descontando-se as demais frações do alimento, conforme metodologia descrita por Hall (2000). A vantagem desse método é que ao longo da análise se obtém as demais frações do alimento, entretanto, todos os erros analíticos ficam acumulados sobre o valor estimado da fibra solúvel. Há também o método enzimático-gravimétrico (AOAC 1995), realizado através da ação de enzimas proteolíticas e amilolíticas. Tem a vantagem de ser um método mais preciso, porém o custo de aquisição das enzimas para realização das análises torna o método inviável.

O fracionamento dos carboidratos solúveis permite descrever como e onde podem ser digeridos, características de fermentação e que quantidades e tipos de nutrientes eles podem oferecer para o ruminante. O estudo de carboidratos solúveis em cada alimento, bem como a concentração e a disponibilidade dentro de cada dieta pode ajudar a explicar muitos resultados apresentados por vários pesquisadores. Pizon & Wing (1975), estudando dietas ricas em ureia, verificaram

incremento na utilização do nitrogênio ruminal, reduzindo o nitrogênio na forma de ureia no sangue, quando a polpa cítrica foi utilizada em substituição ao grão de milho. Estes autores sugeriram que a polpa cítrica serve como um estímulo a fermentação ruminal, fornecendo substrato rapidamente fermentável e, aumentando a atividade microbiana.

Os resultados de algumas pesquisas realizadas a partir do ano 2000 indicam que a polpa cítrica pode ser utilizada em substituição ao milho das dietas de bovinos sem causar prejuízo ao desempenho animal, nem afetar a qualidade de produtos como a carne e o leite. Prado et al. (2000) avaliando o desempenho e as características de carcaça de novilhos cruzados (Nelore X Angus) em dietas contendo diferentes níveis de substituição do grão de milho por polpa cítrica, não encontraram diferença em nenhuma das características avaliadas, concluindo que a polpa pode substituir o grão de milho em até 100%. Assis et al. (2004) não verificaram diferença na produção e composição do leite de vacas ao substituir o grão de milho em até 100% pela polpa cítrica. Em estudo com tourinhos confinados Henrique et al. (2004) observaram que o aumento na inclusão da polpa cítrica em até 55% da matéria seca da dieta, substituindo o grão de milho, não afetou o ganho de peso, o consumo de matéria seca e a conversão alimentar. Também foi observada melhora no desempenho dos animais pela substituição de fontes de amido por fontes de fibra solúvel em detergente neutro por Faturi et al. (2006) em novilhos de corte.

Da mesma forma, a polpa cítrica também pode ser utilizada na alimentação de cordeiros em terminação, pois de acordo com Gilaverte et al. (2011) a substituição total do milho pela polpa cítrica peletizada em associação ou não ao resíduo úmido de cervejaria em dietas com alta inclusão desse ingrediente (46,9% da MS) não afeta a digestibilidade aparente dos nutrientes nem o desempenho animal.

Ainda são escassos os trabalhos publicados avaliando a inclusão de glicerina como macro ingrediente na dieta, sendo que nesses trabalhos a glicerina é acrescentada em substituição ao milho apresentando divergências em relação aos resultados obtidos, principalmente aos relacionados à fermentação ruminal, portanto seu metabolismo ainda não está elucidado. A maioria dos trabalhos publicados

demonstraram que a polpa cítrica pode substituir o milho nas dietas de ruminantes sem prejuízos no desempenho animal (HENRIQUE et al., 2004; FATURI et al., 2006), dessa forma, é necessário investigar as possíveis alterações ruminais e os reflexos sobre o desempenho animal quando a glicerina é associada à polpa cítrica, uma fonte de carboidratos solúveis com características fermentativas diferentes do milho.

OBJETIVO GERAL

Objetivou-se nesse estudo avaliar os efeitos da inclusão de glicerina associada ao milho ou polpa cítrica nas dietas de bovinos da raça Nelore.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1 – Avaliar a inclusão de 10 e 15% de glicerina na matéria seca em dietas com maiores concentrações de milho ou polpa cítrica sobre o consumo e digestibilidade da matéria seca e nutrientes, pH ruminal, concentrações de nitrogênio amoniacal, produção *in vitro* de gases metano e dióxido de carbono e produção e qualidade da massa microbiana de bovinos da raça Nelore.

2 – Avaliar a inclusão de 10 e 15% de glicerina na matéria seca em dietas com maiores concentrações de milho ou polpa cítrica sobre o consumo de matéria seca e nutrientes, desempenho em confinamento, características quantitativas da carcaça e qualitativas da carne, parâmetros sanguíneos e comportamento ingestivo bovinos da raça Nelore confinados.

REFERÊNCIAS

ABDALLA, A. L.; SILVA FILHO, J. C.; GODOI, A.R.; CARMO, C.A.; EDUARDO, J. L. P. Utilização de subprodutos da indústria do biodiesel na alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, suplemento especial, p. 260-268, 2008.

ABO EL-NOR, S.; ABU GHAZELEH, A. A.; POTU, R. B.; HASTINGS, D.; KATTAB, M.S.A. Effects of differing levels of glycerol on rumen fermentation and bacteria. **Animal Feed Science and Technology**, v.162, p.99-105, 2010.

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS – ANP. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/biocombustiveis/biodiesel.asp>>. Acesso em: 15 jan.2014

ARCURI, P.B.; LOPES, F.C.F.; CARNEIRO, J.C. Microbiologia do rúmen. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Eds). **Nutrição de Ruminantes**. 1 ed., p. 151-182, 2006.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURE CHEMISTS – A.O.A.C. **Official methods of the analysis**. 11^a ed. Washington, D.C., 1995

ASSIS, A.J.; CAMPOS, J.M.S.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.; LANA, R.P.; EUCLYDES, R.F.; MENDES NETO, J.; MAGALHÃES, A.L.R.; MENDONÇA, S.S. Polpa cítrica em dietas para vacas em lactação. 1. Consumo de nutrientes, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.1, p.242-250, 2004.

AVILA-STAGNO, J.; CHAVES, A.V.; HERNANDEZ-CALVA, M.; BEAUCHEMIN, K.A; MCGINN, S.M.; WANG, Y.; HARSTAD, O.M.; McALLISTER, T.A. Effects of replacing barley grain in feedlot diets with increasing levels of glycerol on in vitro fermentation and methane production. **Animal Feed Science and Technology**, v.166-1667, p.265-268, 2011.

AVILA-STAGNO, J.; CHAVES, A.V.; HE, M.L.; HARSTAD, O.M.; BEAUCHEMIN, K.A; MCGINN, S.M.; McALLISTER, T.A. Effects of increasing concentrations of glycerol in concentrate diets on nutrient digestibility, methane emissions, growth, fatty acid profiles, and carcass traits of lambs. **Journal of Animal Science**, v.91, p.829-837, 2013.

BEN-GHEDALIA, D.; YOSEF, E.; MIRON, J.; EST, Y. The effects of starch- and pectin- rich diets on quantitative aspects of digestion in sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v.24, p.289-298, 1989.

BERNARDES, T.F. **Características fermentativas, microbiológicas e químicas do capim-Marandu (*Brachiaria brizantha* (Hoschst ex. A. Rich) Stapf cv. Marandu) ensilado com polpa cítrica peletizada.** Dissertação (Mestrado em Zootecnia). 2003. 118f. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

BRISSON, D.; VOHL, M.C.; ST-PIERRE, J.; HUDSON, T.J.; GAUDET, D. Glycerol: a neglected variable in metabolic process. **BioEssays**, v.23, p.534-542, 2001.

CARVALHO, M.P. Citros. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 6., Piracicaba, 1995. Anais. Piracicaba:FEALQ, 1995. p.171-214.

CARVALHO, P.L.O.; MOREIRA, I.; PIANO, L.M.; TOLEDO, J.B.; GALLEGOS, A.G.; CRUZ, T.M.P. Valor nutricional da glicerina bruta e semipurificada na alimentação de suínos na fase de crescimento. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 47, 2010, Salvador. **Anais...** Salvador: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2010.

CARVALHO, P.L.O. **Glicerina bruta na alimentação de suínos.** Maringá. 2011. 92p. Tese (doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá.

CLARK, J.H., KLUSMEYER, T.H.; CAMERON, M.R. Symposium: nitrogen metabolism and amino acid nutrition in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.2304-2323, 1992.

DASARI, M. Crude glycerol potencial described. **Feedstuffs**. 15 de Out., p.16-19, 2007.

DeFRAIN, J.M.; HIPPEN, A.R.; KALSCHEUR, K.F.; JARDON, P.W., Feeding glycerol to transition dairy cows: effects on blood metabolites and lactational performance. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.4195-4206, 2004.

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

DOPPENBERG, J.; VAN DER A.A.R.P. The nutrition value of biodiesel by-products (Part2: Glycerine). **Feed Business Asia**, p.42-43, 2007.

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

DROUILLARD J.S. Utilization of crude glycerine in beef cattle. In Biofuel co-products as livestock feed – Opportunities and challenges (eds HPS Makkar), pp.155-162. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, 2012

ELAM, N. A.; ENG, K. S.; BECHTEL, B.; HARRIS, J. M.; CROCKER, R. Glycerol from biodiesel production: Considerations for feedlot diets. **Proceedings of the Southwest Nutrition Conference**. Tempe AZ. n.21, 2008.

FATURI, C.; EZEQUIEL, J.M.B.; FONTES, N.A.; STIAQUE, M.G.; SILVA, O.G.C. Fibra solúvel e amido como fontes de carboidratos para terminação de novilhos em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.5, p. 2110-2117, 2006.

FEGEROS, K.; ZERVAS, G.; STAMOULI, S.; APOSTOLAKI, E. Nutritive value of dried citrus pulp and its effects on milk yield and milk composition of lactating ewes. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 78, p. 1116-1121, 1995.

FISHER, J. L.; ERFLE, J. D.; LODGE, G. A.; SAUER, F. D. Effects of propylene glycerol or glycerol supplementation of the diet of dairy cows on feed intake, milk yield and composition, and incidence of ketosis. **Canadian Journal of Animal Science**, v.53, p.289-296, 1973

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA), **Code of Federal Regulations**, 21CFR582.1320, Title21, v.6, 2006.

GILAVERTE, S.; SUSIN, I.; PIRES, A.V., FERREIRA, E.M.; MENDES, C.Q.; GENTIL, R.S; BIEHL, M.V.; RODRIGUES, G.H.. Digestibilidade da dieta, parâmetros ruminais e desempenho de ovinos Santa Inês alimentados com polpa cítrica peletizada e resíduo úmido de cervejaria. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.3, p.639-647, 2011.

GOMES, M.A.B.; MORAES, G.V.; MATAVELI, M.; MACEDO, F.A.F; CARNEIRO, T.C.; ROSSI, R.M. Performance and carcass characteristics of lambs fed on diets supplemented with glycerin from biodiesel production. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.10, p.2211-2219, 2011.

GUNN, P.J.; NEARY, M.K.; LEMENAGER, R.P.; LAKE, S.L. Effects of crude glycerin on performance and carcass characteristics of finishing wether lambs. **Journal of Animal Science**, v.88, p.1771-1776, 2010.

HALES, K.E.; BONDURANT, R.G.; LUEBBE, M.K.; COLE, N.A.; MacDONALD, J. C. Effects of crude glycerin in steam-flaked corn-based diets fed to growing feedlot cattle **Journal of Animal Science**, Published Online First on May 8, 2013 as doi:10.2527/jas.2012-5944

HALL, M.B. Neutral detergent-soluble carbohydrates nutritional relevance and analysis. Bulletin 339. University of Florida. 2000.

HATFIELD, R. D. Pectin polysaccharides of forages and their degradability. **Agronomy Journal**, Madison, v. 81, p. 39-46, 1987.

HENRIQUE, W.; SAMPAIO, A.A.M.; LEME, P.R.; ALLEONI, G.F.; LANNA, D.P.D.; MALHEIROS, E.B. Digestibilidade e balanço de nitrogênio em ovinos alimentados à base de dietas com elevado teor de concentrado e níveis crescentes de polpa cítrica peletizada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.2007-2015, 2003.

HENRIQUE, W.; SAMPAIO, A.A.M.; LEME, P.R.; LANNA, D.P.D.; ALLEONI, G.F.; COUTINHO FILHO, J.L.V. Desempenho e características da carcaça de tourinhos Santa Gertrudes confinados, recebendo dietas com alto concentrado e níveis crescentes de polpa cítrica peletizada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.2, p.463-470, 2004.

HOBSON, P.N.; MANN, O.S. The isolation of glycerol-fermenting and lipolytic bacteria from the rumen of the sheep. **Journal of General Microbiology**, v.25, p.227-240, 1961.

HOOVER, W.H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal of Animal Science**, v.69, p.2755-2766, 1986.

IUPAC. **International Union of Pure and Applied Chemistry**. A Guide to IUPAC Nomenclature of Organic Compounds – Recommendations, 1993.

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

KREHBIEL, C. R. Ruminal and physiological metabolism of glycerin. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, n. 1, p. 392. Abstract, 2008

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

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

LEE, S. Y.; LEE, S. M.; CHO, Y. B.; KAM, D. K.; LEE, S. C.; KIM, C. H.; SEO, S. Glycerol as a feed supplement for ruminants: in vitro fermentation characteristics and methane production. **Animal Feed Science and Technology**, v.166-167, p.269-274, 2011.

LEHNINGER, A. L. Princípios de Bioquímica. 5 ed. Sarvier, São Paulo, 725 p. Cap. 12, p.223-290, 2011.

LIMA, P.C.R. **Biogás na suinocultura: uma importante fonte de geração de energia**. Biblioteca digital da câmara dos deputados. 2007. Disponível em: <<http://bd.camara.gov.br/bd/handle/bdcamara/1724?show=full>> Acesso em: 18 jul 2013.

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

MACH, N.; BACH, A.; DEVANT, M. Effects of crude glycerin supplementation on performance and meat quality of Holstein bulls fed high-concentration diets. **Journal of Animal Science**, v.87, p.632-638, 2009.

MOTA, C.J.A.; DA SILVA, C.X.A.; GONÇALVES, V.L.C. **Química Nova**. v.32, n.3, p.639, 2009

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 1996. 242p.

PAGGI, R.A., FAY, J.P., FAVERIN, C. In vitro ruminal digestibility of oat hay and cellulolytic activity in the presence of increasing concentrations of short-chain acids and glycerol. **Journal of Agriculture Science**. v.142, p.89-96, 2004.

PARSONS, G.L.; DROUILLARD, J.S. Effects of crude glycerin on ruminal metabolism and diet digestibility in flaked corn finishing diets. **Journal of Animal Science**. v.88 (Suppl. 3), p.96 (Abstr.), 2010.

PARSONS, G.L.; SHELOR, M.K.; DROUILLARD, J.S. Performance and carcass traits of finishing heifers fed crude glycerin. **Journal of Animal Science**, v.87, p.653-657, 2009.

PIZON, F.J.; WING, M.; Effects of citrus pulp in high urea rations for steers. **Journal of Dairy Science**, v.59, n.6, p.1100-1103, 1975.

PRADO, I.N.; PINHEIRO, A.D.; ALCALDE, C.R.; ZEOULA, LM; NASCIMENTO, WG; SOUZA, NE. Níveis de substituição do milho pela polpa de citrus peletizada sobre o desempenho e características da carcaça de bovinos mestiços confinados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.6, 2135-2141, 2000.

PYATT, N.A.; DOANE, P.H.; CECAVA, M.J.; Effect of crude glycerin in finishing cattle diets. **Journal of Animal Science**, v.85, Suppl. 1, p.412 (Abstract 530), 2007

RIVALDI, J.D.; SARROUB, B.F.; FIORILO, R.; SILVA, S.S. Glicerol de biodiesel: Estratégias biotecnológicas para o aproveitamento do glicerol gerado da produção de biodiesel. **Biotecnologia, Ciência e Tecnologia**, v.37, p.44-51, 2007

ROGER, V.; FONTY, G.; ANDRE, C.; GOUET, P. Effects of glycerol on the growth, adhesion and cellulolytic activity of rumen cellulolytic bacteria and anaerobic fungi. **Current Microbiology**, v.25, p.197-201, 1992

SARTURI, J.O. **Polpa cítrica úmida despectinada em substituição à polpa peletizada no desempenho de bovinos de corte confinados** Dissertação (Mestrado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP. 2008. 138p.

SCHNEIDER, C.J. **Crude glycerin in feedlot cattle diets and as a solvent in maillard reaction processes intended for manufacturing value-added protein meals.** 2010. 90f. Tese. - Kansas State University, Manhattan, KS, 2010.

SCHRÖDER, A; SÜDEKUM, K. H. **Glycerol as a by-product of biodiesel production in Diets for ruminants.** 10 international rapeseed congress, Canberra/Australian, 1999.

STROBEL, H.J.; RUSSEL, J.B. Effect on pH and energy spilling on bacterial protein synthesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. **Journal of Dairy Science**, v.69, p.2941-2947, 1986.

THOMPSON, J.C.; HE, B. Characterization of crude glycerol from biodiesel production from multiple feedstocks. **Applied Engineering in Agriculture** v.22, n.2, p.261-265, 2006.

TRABUE, S.; SCOGGIN, K.; TJANDRAKUSUMA, S.; RASMUSSEN, M.A.; REILLY, P.J. Ruminant fermentation of propylene glycol and glycerol. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v.50, p.7043-7051, 2007.

Van SOEST, P.J. **Nutrition ecology of the ruminants.** Ithaca, New York: Cornell University Press, 1994. 476p.

VERONESE, V.B.; BARRIOS, S.B.; DALL'ALBA, K.; KLIPPEL, R.M.; PFLUCK, A.D; LÍBIO, I.C.; GERBASE, A.E.; PETZOLD, C.L. Glicerina: matéria-prima para preparação de adesivos e espumas poliuretânicas a resinas aquídicas. *In: III CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DO BIODIESEL.* **Anais...** Brasília-DF, 2009

WING, J.M.; VAN HORN, H.H.; SKLARE, S.D.; HARRIS Jr, B. Effects of citrus molasses, distillers solubles and molasses on rumen parameters and lactation. **Journal of Dairy Science**, v.71, n.2, p.414-420, 1988.

YAZDANI. S.S.; GONZÁLEZ. R. Anaerobic fermentation of glycerol: a path to economic viability for the biofuels industry. **Current Opinion in Biotechnology**. v.18, n.3, p.213-219 (Invited), 2007.

CAPÍTULO 2 – CONSUMO, DIGESTIBILIDADE APARENTE E PARÂMETROS RUMINAIS DE BOVINOS ALIMENTADOS COM MILHO E POLPA CÍTRICA ASSOCIADOS À GLICERINA

RESUMO - Cinco bovinos providos de cânulas permanentes no rúmen, distribuídos em delineamento experimental quadrado latino (5 x 5) foram utilizados para avaliar a associação do milho ou polpa cítrica com glicerina, em concentrações de 10 e 15% da matéria seca, e seus efeitos sobre consumo, digestibilidade, parâmetros ruminais (pH, concentração de nitrogênio amoniacal e ácidos graxos de cadeia curta), produção de gás metano e produção e qualidade da massa microbiana. Cinco dietas foram fornecidas e denominadas de: CON - sem adição de glicerina; M10 – milho e 10% de glicerina; M15 – milho e 15% de glicerina; P10 – polpa cítrica e 10% de glicerina; P15 – polpa cítrica e 15% de glicerina. O consumo de MS foi menor nos tratamentos com polpa cítrica quando comparados aos tratamentos com milho ($P < 0,05$). As digestibilidades da MS, MO, FDN, FDA e amido foram influenciadas pelos tratamentos ($P < 0,05$), sendo que os tratamentos P10 e P15 apresentaram os menores coeficientes. Somente a digestibilidade da FSDN foi maior nos tratamentos P10 e P15 em comparação aos tratamentos M10 e M15. O pH ruminal, nitrogênio amoniacal e a produção de metano não foram influenciados ($P > 0,05$) pelos tratamentos e apresentaram valores médios de 6,38, 17,99 mg/dL e 18,3 mL/gMS, respectivamente. A inclusão de glicerina nas dietas proporcionou aumento na concentração de ácido butírico mas, houve redução na concentração de ácido acético e ácidos graxos de cadeia curta totais ($P < 0,05$). A relação acetato:propionato foi maior no tratamento controle seguida dos tratamentos com polpa cítrica. Com relação à produção e qualidade da massa microbiana as concentrações das bactérias líquido associadas (BLA) e sólido aderidas (BSA) foram mais influenciadas em relação aos protozoários líquido associados (PLA). Para as BLA foram observadas reduções na produção de MS, MO e N (mg/L) nos tratamentos P10 e P15 ($P < 0,05$). Para as BSA a adição de glicerina causou a redução na produção de MS, MO e N (mg/kg). Os PLA apresentaram maior teor de nitrogênio nas dietas que continham glicerina em comparação ao tratamento controle. Sendo que, os tratamentos M10 e M15 foram superiores aos tratamentos P10 e P15 ($P < 0,05$). A utilização de polpa cítrica associada à glicerina precisa de maiores investigações, pois o ambiente ruminal foi negativamente influenciado quando comparado aos tratamentos em que o milho foi associado à glicerina.

Palavras-chave: amido, biodiesel, fibra solúvel em detergente neutro, microrganismos, rúmen

INTRODUÇÃO

O sistema de produção de bovinos em confinamento no Brasil tem passado por grandes mudanças nos últimos anos, especialmente em relação ao tamanho dos empreendimentos, manejo e nutrição dos animais. Esses sistemas são caracterizados pela utilização de altas quantidades de milho nas dietas. O milho é o alimento energético mais utilizado nas rações de animais confinados e, seu preço, influencia fortemente as cadeias produtivas de proteína animal. Todavia, a tendência do preço deste grão é aumentar ainda mais, já que este ingrediente também é utilizado para a produção de etanol, principalmente nos Estados Unidos, assim, a utilização do milho na dieta de ruminantes precisa ser melhor estudada. Além disso, os riscos associados ao maior teor de energia (principalmente amido), no que se refere à saúde animal, são maiores e podem causar perdas econômicas e de desempenho.

A ideia da utilização de alimentos não convencionais para ruminantes vem ganhando espaço nos últimos anos, principalmente com o objetivo de atender às dificuldades de pequenos produtores, para os quais muitas vezes o custo de alimentação dos animais é um impedimento para a criação. A avaliação de ingredientes alternativos para a alimentação de ruminantes deve incluir investigações sobre o padrão de fermentação ruminal, que está associado ao potencial do alimento em promover o desempenho dos animais.

O aumento na utilização da energia no rúmen, a maximização do uso do nitrogênio pelas bactérias ruminais e a redução das perdas por metano e amônia são alguns objetivos dos nutricionistas para aumentar com eficiência o desempenho animal. Uma das alternativas para atingir esses objetivos envolve a manipulação da fermentação ruminal, onde o complexo ecossistema hidrolisa e fermenta a fibra e demais nutrientes até produtos úteis e disponíveis ao hospedeiro que habita (EUGÈNE, ARCHIMÈDE & SAUVANT, 2004).

Os estudos sobre a utilização da glicerina na alimentação foram estimulados pela possibilidade de redução de preço devido à grande oferta de produto nos mercados mundiais (PINTO et al., 2005) pois o glicerol nela contido e o conteúdo

energético constituem material promissor para a alimentação animal podendo substituir, em parte, os concentrados energéticos da ração.

A literatura aponta diversos resultados contraditórios em relação a utilização de glicerina como macroingrediente em dietas de ruminantes, contudo é importante levar em consideração a composição da glicerina e os demais ingredientes utilizados na dieta. Parcela significativa das pesquisas sobre glicerina na alimentação de ruminantes está relacionada ao desempenho animal e qualidade da carne sendo que, nestes casos, a glicerina foi avaliada em substituição ao milho da dieta (PYATT, DOANE & CECAVA, 2007; MACH, BACH & DEVANT, 2009; PARSONS, SHELOR & DROUILLARD, 2009; GUNN et al., 2010; GOMES et al., 2011) conseqüentemente, os efeitos da suplementação de glicerina e seu padrão de fermentação ruminal principalmente quando associada à outros ingredientes como a polpa cítrica, por exemplo não estão completamente elucidados.

Alguns estudos indicaram que a inclusão de glicerina em dietas de ruminantes causou redução na população de bactérias ruminais, principalmente celulolíticas (ABO EL-NOR et al., 2010) e conseqüentemente prejuízos no aproveitamento da fração fibrosa pelos animais (PAGGI, FAY & FAVERIN, 2004; DONKIN, 2008; PARSONS & DROUILLARD, 2010; SCHNEIDER, 2010). A redução na digestibilidade da fibra pode ser devida a interferência da glicerina na adesão bacteriana às partículas de alimento (ROGER et al., 1992).

A utilização de polpa cítrica em dietas para ruminantes é uma boa opção devido a suas características nutricionais (concentração energética elevada, alta digestibilidade e aceitabilidade), disponibilidade e menor preço de mercado, quando comparado ao milho. Porém, informações sobre os efeitos dos carboidratos solúveis na dieta de ruminantes ainda são escassas, principalmente quando associados à glicerina, subproduto do biodiesel. A associação da glicerina a ingredientes ricos em fibra solúvel, como a polpa cítrica, precisa ser investigada, pois pode representar uma importante fonte de energia para os animais ruminantes e trazer benefícios ao ambiente ruminal, sem reduzir drasticamente o pH, proporcionando melhor aproveitamento da FDN dos alimentos volumosos (HENRIQUE et al., 2003).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o consumo e digestibilidade da matéria seca e nutrientes, pH ruminal, concentração de nitrogênio amoniacal,

produção de gases, quantificação e composição de bactérias e protozoários líquido associados e bactérias sólido aderidas de bovinos alimentados com glicerina associada ao milho e polpa cítrica.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi conduzido de acordo com as normas éticas e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Unesp/Jaboticabal (número do protocolo 021578/11).

Local de condução do experimento

O experimento foi conduzido na Unidade Animal de Estudos Digestivos e Metabólicos pertencente ao Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual Paulista - Unesp, Câmpus de Jaboticabal.

Dietas experimentais

As dietas experimentais foram formuladas de acordo com o NRC (1996) com relação volumoso:concentrado de 30:70, base na matéria seca e dieta contendo em média 12,15% de proteína bruta e 2,79 Mcal de energia metabolizável/kg de MS. A silagem de milho foi o volumoso e o concentrado, composto por milho em grão, polpa cítrica peletizada, casca de soja, ureia, glicerina, calcário calcítico, fosfato bicálcico e suplemento mineral. A glicerina utilizada foi obtida do óleo de soja e apresentou 83% de glicerol, 11% de água, 6% de sais (dos quais 99% eram NaCl) e 0,01% de metanol (Caramuru Alimentos Ltda.). Na Tabela 1 encontra-se a composição bromatológica dos ingredientes e na Tabela 2 a porcentagem dos ingredientes e a composição bromatológica das dietas experimentais.

Neste ensaio foram utilizados cinco bovinos machos castrados da raça Nelore, com aproximadamente 400 kg de peso corporal, providos de cânulas ruminais permanentes. O delineamento experimental foi o quadrado latino 5 x 5. Os períodos experimentais tiveram duração de 21 dias sendo 15 dias para adaptação dos animais às condições experimentais e seis dias para colheita de dados.

Tabela 1 - Matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), amido, fibra solúvel em detergente neutro (FSDN), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) dos ingredientes utilizados na formulação das dietas experimentais.

Ingredientes	MS	MO	FDN	FDA	Amido	FSDN	PB	EE
	(%)	% MS						
Silagem de milho	30,6	96,1	46,4	33,3	34,7	8,6	8,2	4,0
Milho grão	88,8	98,7	10,0	4,8	60,0	5,0	9,9	5,2
Polpa cítrica	89,2	91,1	20,3	12,3	7,6	48,0	7,6	3,1
Casca de soja	88,7	93,9	70,6	58,8	6,9	7,5	12,3	3,4

Análises realizadas no laboratório de ingredientes e gases poluentes, da Universidade Estadual Paulista – Unesp, câmpus de Jaboticabal.

Tabela 2 - Porcentagem dos ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais (% MS)

Ingredientes	Dietas				
	CON	M10	M15	P10	P15
Silagem de milho	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00
Milho	29,35	29,30	24,30	12,40	12,55
Polpa cítrica	20,00	6,00	6,10	25,00	20,00
Casca de soja	18,15	21,80	21,50	19,70	19,40
Glicerina	0,00	10,00	15,00	10,00	15,00
Ureia	1,10	1,30	1,50	1,50	1,60
Calcário calcítico	0,20	0,25	0,25	0,00	0,00
Fosfato bicálcico	0,70	0,85	0,85	0,90	0,95
Suplemento mineral ¹	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição nutricional (%MS)					
PB	12,16	12,07	12,20	12,17	12,13
EM (Mcal/kg)	2,79	2,80	2,82	2,76	2,78
FDN	33,38	32,97	32,78	33,65	32,93
FSDN	14,99	8,52	8,35	16,64	14,28
Amido	30,78	29,92	26,96	21,09	20,82

CON= Controle, sem adição de glicerina; M10= milho e 10% de glicerina; M15= milho e 15% de glicerina; P10= polpa cítrica e 10% de glicerina; P15= polpa cítrica e 15% de glicerina. PB= Proteína bruta; EM= energia metabolizável; FDN= fibra em detergente neutro; FSDN= fibra solúvel em detergente neutro; ¹Suplemento Mineral para Bovinos, níveis de garantia por 1000g do produto: Fósforo 40g, Cálcio 80g, Sódio 195g, Cloro 300g, Magnésio 5g, Enxofre 26g, Zinco 2000mg, Cobre 1000mg, Manganês 500mg, Cobalto 100mg, Iodo 100mg, Selênio 5mg, Flúor (máx.) 400mg, veículo q.s.p. 1000g

Manejo dos animais e instalações

Os animais foram alojados em baias individuais com 16 m², com piso concretado e parcialmente cobertas, providas de bebedouros e cochos individuais. Os animais receberam água a vontade e foram alimentados duas vezes ao dia as 8 e 16h. Diariamente a glicerina foi pesada separadamente, misturada ao concentrado e misturada à silagem no momento da alimentação. Além disso, foi mantido manejo higiênico/sanitário rigoroso dos animais, sendo as baias e bebedouros higienizados diariamente.

Consumo e digestibilidade aparente da matéria seca e nutrientes

As rações foram fornecidas para que as sobras não ultrapassassem 10% do oferecido, sendo que as sobras foram recolhidas e pesadas diariamente. Durante seis dias do período experimental, do 16^o ao 21^o dias, foram colhidas amostras de sobras, totalizando seis amostras/animal/período. Os alimentos foram amostrados no início de cada período. As amostras fecais (aproximadamente 100g) foram colhidas no 17^o dia do período experimental, do chão imediatamente após a defecação, 02, 06, 10, 14, 18 e 22 horas após a refeição matinal, perfazendo um total de seis amostragens/animal/período. A amostragem foi feita na parte superior das fezes para evitar possível contaminação com o solo. Posteriormente as amostras foram secas em estufa com circulação forçada de ar em temperatura de 55 °C por 72 horas. Após a secagem as amostras foram devidamente identificadas e armazenadas individualmente em sacos plásticos. Ao término do ensaio as amostras foram moídas em moinho de facas, dotado com peneira com crivos de 1mm e, posteriormente misturadas, para formar amostras compostas de fezes, sobras e alimentos.

As amostras de fezes, sobras e alimentos foram analisadas para teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) segundo AOAC (1995) fibra solúvel em detergente neutro (FSDN) de acordo com Hall (2000) e amido conforme metodologia de Hendrix (1993). A fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDN) e fibra em detergente ácido corrigida

para cinzas e proteína (FDA) foram realizadas utilizando as soluções propostas por Van Soest & Wine (1967) e a solubilização realizada em autoclave (0,5 Kgf/cm², 111 °C por 50 minutos). A FDA foi determinada de forma sequencial devido a utilização de polpa cítrica nas dietas.

Os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca e dos demais nutrientes foram determinados utilizando-se a fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) como indicador interno, a qual foi determinada pela técnica de incubação *in situ* dos alimentos, das sobras e das fezes durante 264 horas segundo a técnica descrita por Casali et al. (2008). Utilizou-se sacos de náilon, 100% poliamida, medindo 14,0 x 7,0 cm, com poros de 50 micrometros e foram pesados 5g de matéria seca em cada saco incubado.

O cálculo dos coeficientes de digestibilidade aparente da MS e demais nutrientes foi realizado conforme descrito abaixo:

Coeficiente de Digestibilidade Aparente da Matéria Seca (CDMS)

$$CDMS\% = [1 - (\% \text{ indicador ingerido} / \% \text{ indicador nas fezes})] \times 100$$

Coeficiente de Digestibilidade dos Nutrientes (CDN)

$$CDN\% = [1 - ((\% \text{ indicador ingerido} / \% \text{ indicador nas fezes}) \times (\% \text{ do nutriente nas fezes} / \% \text{ do nutriente ingerido}))] \times 100$$

pH, concentrações ruminiais de nitrogênio amoniacal e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC)

Para determinar o pH, concentrações de amônia e AGCC no líquido ruminal, foram colhidas amostras do fluído ruminal (cerca de 100 mL), via cânula ruminal, nos tempos 0, 1, 2, 4, 6 e 8 horas após a primeira alimentação, no 18^o dia de cada período experimental. O tempo 0 corresponde à amostra colhida imediatamente antes da primeira refeição (8h).

O conteúdo foi filtrado em filtro de nylon com porosidade de 100 µm. O pH foi medido imediatamente após a colheita com auxílio de peagâmetro digital. Em

seguida foi determinada a concentração de nitrogênio amoniacal segundo a técnica de Vieira (1980). O processo é dividido em duas etapas: a destilação da amostra em aparelho tipo micro-Kjeldhal e a titulação ácida. Para a realização da destilação foi utilizada uma alíquota de 2mL de líquido ruminal por amostra, essa análise foi realizada em duplicata. Posteriormente a amostra foi colocada em tubos de proteína e acoplada ao aparelho para a realização da destilação com 13 mL de água destilada, em seguida, foram adicionados 5 mL de KOH à amostra na concentração de 2 mol/L. O destilado foi recebido em um recipiente contendo 10 mL de ácido bórico 2%, utilizado como indicador, até completar o volume de 50 mL. Finalmente a titulação foi realizada com HCl na concentração de 0,005 mol/L e calculada a concentração de amônia ruminal.

Para determinação da concentração dos ácidos acético, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico e valérico uma alíquota de 2 mL foi submetida à centrifugação (2500 g por 15 min a 10°C). Em seguida foi adicionado ácido fórmico ao sobrenadante (500 µL do sobrenadante para 100 µL de ácido fórmico). As concentrações dos AGCC foram determinadas em cromatógrafo gasoso (Shimadzu modelo GC 2010 e auto injetor modelo AOC – 20i) equipado detector de ionização de chama (FID) com coluna capilar Stabilmax (30 m comprimento, 25mm de diâmetro e 0,25 µm de espessura do filme). O gás de arraste foi o nitrogênio, o volume de injeção foi de 1 µL, com razão “split” de 1:30. O injetor e o detector por ionização de chama (FID) foram mantidos a 200 e 250 °C, respectivamente. A temperatura do forno foi programada para iniciar em 80 °C permanecendo assim por 3 minutos, e então elevada a 240°C, sendo o tempo total da corrida de 15 min. A curva de calibração externa foi feita com padrões cromatográficos de ácido acético, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico e valérico.

Produção de metano

A produção de metano, bem como a de dióxido de carbono, foram estimados pela técnica *in vitro* proposta por Gastaldi (2003), e consistiram de três etapas: 1 - *Preparação da amostra*: No 19º dia de cada período experimental antes da alimentação matutina foram colhidas amostras do conteúdo ruminal e filtradas

através de filtro de nylon (100 μm) para obtenção do líquido ruminal. Em erlenmeyers com 250 mL de capacidade foram colocados 125 mL de líquido ruminal e adicionado 1,56 g de MS das dietas, mantendo a proporção de 80 mL de líquido para 1g de MS da dieta. Em um dos recipientes não foi adicionado nenhum substrato, sendo utilizado como “controle”. Para cada tratamento foram utilizados três recipientes com a dieta e dois sem substrato totalizando 5 repetições/tratamento/período.

2 - *Produção e armazenamento de gases*: os erlenmeyers contendo amostras das dietas e líquido ruminal foram fechados com rolhas e mantidos por 24 horas em banho-maria a 39 °C em ambiente escuro. Os gases produzidos foram conduzidos por um sistema capilar de silicone e armazenados em coletores (volume interno de 600 mL), imersos em água, o que permitiu a medição de gases totais por deslocamento de água no seu interior.

3 - *Análise quantitativa e qualitativa dos gases produzidos*: uma alíquota foi coletada diretamente dos erlenmeyers com uma seringa e injetado 0,5 mL de gás em cromatógrafo gasoso (Trace GC Ultra da Thermo Scientific®) equipado com detector de ionização de chama, utilizando o argônio como gás de arraste com fluxo de 25 mL/min e temperatura do forno de 70°C. A calibração foi feita com uma mistura padrão dos gases metano e carbônico. As áreas dos picos foram integradas utilizando o software Chromquest 5.0. A mensuração quantitativa e qualitativa dos gases produzidos pela fermentação *in vitro* do líquido ruminal dos bovinos foi transformada para condições normais de temperatura e pressão (CNTP). A quantidade total de gás produzido foi determinada pelo volume ocupado pelo gás produzido e medido por deslocamento de coletores imersos na água, após 24 horas de fermentação expressos em mL/g MS incubada.

Produção e qualidade da massa microbiana

As amostras de conteúdo ruminal foram colhidas manualmente aproximadamente 3 kg, nos tempos 0, 2, 5 e 8 horas após a alimentação, a colheita foi dividida em dois dias no 20º e 21º dias de cada período experimental, sendo no primeiro as colheitas realizadas nos tempos 0 e 5 horas e no segundo dia nos tempos 2 e 8 horas após a alimentação. Esse procedimento foi feito para evitar a

retirada de grande quantidade de conteúdo ruminal em apenas um dia o que poderia prejudicar o crescimento microbiano. A avaliação da qualidade e quantidade da massa microbiana, nas diferentes fases, das bactérias-sólido-aderidas (BSA), bactérias-líquido-associadas (BLA) e protozoários-líquido-associados (PLA), foi realizada de acordo com a técnica proposta por Martin, Willians & Michalet-Doreau (1994). Para separar a fase líquida da fase sólida o conteúdo ruminal foi filtrado em filtro de nylon com porosidade de 100 μm para separação e quantificação de bactérias e protozoários associados ao líquido e bactérias sólido aderidas. Para a identificação da fase líquida, o líquido ruminal (1L) foi diluído com igual volume de solução salina (0,63% K_2HPO_4 , 0,5% KH_2PO_4 , 0,065% NaCl , 0,09% $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,09% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5% cloridrato de cisteína), pré-aquecida a 39 °C (COLEMAN, 1978). O líquido ruminal juntamente com a solução salina foram incubados por 30 a 60 minutos a 39 °C. Nos últimos cinco minutos de incubação, foi adicionada glicose (1 g/L), para separar os PLA do restante do conteúdo ruminal e otimizar a floculação. O pélete de protozoário foi recuperado por centrifugação do fluido clarificado, a 1000 x g, por 10 minutos, à temperatura ambiente. Posteriormente, este pélete foi lavado com solução salina em filtro de nylon, com porosidade de 20 μm (1 litro a 39 °C), para minimizar a contaminação por bactérias e resíduos de alimento. Após a filtragem o resíduo foi pesado e congelado a -20 °C para posterior análise. As BLA foram obtidas pela centrifugação do fluido sobrenadante livre de protozoário a 15000 x g, por 20 minutos a 4 °C.

A fase sólida foi identificada utilizando-se 200 g de amostra sólida ruminal a qual foi lavada e agitada manualmente, por cinco minutos, em um frasco com solução salina, pré-aquecida a 39 °C (1 g de material fresco/4 mL de solução), para remover a população não aderente associada à fase sólida. Após esse processo, foi realizada uma filtragem em filtro de náilon de 100 μm . O filtrado foi centrifugado a 1000 x g, por 10 minutos, à temperatura ambiente, para recuperar o pélete de pequenas partículas de sólido que estavam associadas às grandes partículas que ficaram retidas no filtro. As partículas grandes e pequenas foram combinadas e suspensas em solução salina (1 g de sólido/4 mL) pré-resfriado a 4 °C e posteriormente, homogeneizadas três vezes por um minuto no vórtex, em velocidade alta. Posteriormente, foram processadas por cinco minutos em "Stomacher® 400

circulator”. Este processo mecânico teve como objetivo separar a bactéria associada e algum fungo ou protozoário aderido às partículas, através da homogeneização por combinação de forças mecânicas, esmagando e agitando o material. O homogeneizado foi filtrado em um filtro de náilon com porosidade de 100 μm , sendo esse processo realizado duas vezes. Os filtrados que continham a população aderente foram agrupados e centrifugados a 1000 x g por 10 minutos, a 4 °C, para descartar o resíduo de alimento. A fração sobrenadante foi centrifugada a 27000 x g por 30 minutos, a 4 °C. O sedimento resultante correspondeu às BSA. As amostras de BLA, PLA e BSA obtidas foram liofilizadas e analisadas quanto aos teores de nitrogênio (N), matéria seca (MS) e matéria mineral (MM), estimando-se os teores de matéria orgânica (MO).

Análise estatística

O delineamento estatístico foi o quadrado latino 5X5. Os dados foram analisados utilizando o procedimento MIXED do programa estatístico SAS (SAS 9.2, SAS Institute, Carry, NC, USA). Para os dados de consumo, digestibilidade aparente e produção de gases metano e dióxido de carbono foi adotado o modelo estatístico: $Y = \mu + A_i + P_j + D_k + e_{ijkl}$, em que μ = média geral, A_i = efeito aleatório do animal ($i = 1$ a 5), P_j = efeito aleatório do período ($j = 1$ a 5), D_k = efeito fixo da dieta ($k = 1$ a 5) e e_{ijkl} = erro residual.

Para os dados de pH ruminal, concentração de amônia ruminal, ácidos graxos de cadeia curta e qualidade de massa microbiana o fator tempo de colheita foi considerado como medidas repetidas no tempo conforme o modelo estatístico: $Y = \mu + A_i + P_j + D_k + T_l + D_k \times T_l + e_{ijkl}$, em que μ = média geral, A_i = efeito aleatório do animal ($i = 1$ a 5), P_j = efeito aleatório do período ($j = 1$ a 5), D_k = efeito fixo da dieta ($k = 1$ a 5), T_l = efeito fixo do tempo de colheita, $D_k \times T_l$ = interação entre dieta e tempo de colheita e e_{ijkl} = erro residual. Diversas estruturas de covariância foram testadas, sendo que no Quadro 1 estão demonstradas as utilizadas em cada variável.

Foram realizados contrastes ortogonais para verificar as significâncias ($P < 0,05$) entre: CON vs tratamentos com glicerina (M10, M15, P10 e P15), M10 vs M15, P10 vs P15 e milho (M10 e M15) vs polpa (P10 e P15).

Quadro 1. Estruturas de covariância utilizadas em cada variável

Variável	Estrutura
pH	Heterogeneous Toeplitz
N-NH ₃	Compound Symmetry
Ácido acético	Compound Symmetry
Ácido propiônico	Toeplitz
Ácido butírico	Heterogeneous Compound Symmetry
AGCC totais	Toeplitz
<i>Bactérias líquido associadas</i>	
MS (mg/L)	Variance Components
MO (mg/L)	Variance Components
N (mg/L)	Compound Symmetry
MO (%MS)	Compound Symmetry
N (%MO)	Huynh-Feldt
<i>Protozoários líquido associados</i>	
MS (mg/L)	Huynh-Feldt
MO (mg/L)	Huynh-Feldt
N (mg/L)	Compound Symmetry
MO (%MS)	Toeplitz
N (%MO)	Unstructured
<i>Bactérias sólido aderidas</i>	
MS (mg/kg)	Huynh-Feldt
MO (mg/kg)	Heterogeneous Compound Symmetry
N (mg/kg)	Heterogeneous Compound Symmetry
MO (%MS)	Toeplitz
N (%MO)	Variance Components

RESULTADOS

Consumo e digestibilidade da matéria seca e nutrientes

Os consumos de matéria seca e nutrientes foram alterados pelos tratamentos ($P < 0,05$; Tabela 3), sendo que os consumos de MS, MO, FDN, FDA e PB foram menores nos tratamentos com polpa cítrica (P10 e P15) do que nos tratamentos com milho (M10 e M15). Em média o consumo de MS foi de 7,3 kg/dia para os tratamentos com milho enquanto que nos tratamentos com polpa cítrica foi de 6,0 kg/dia (Contraste 4; Tabela 3). As alterações no consumo de amido e FSDN já eram esperados em função da composição da dieta, onde o consumo de amido foi maior nos tratamentos com milho e o consumo de FSDN maior nos tratamentos com polpa cítrica. O consumo desses nutrientes também foram maiores no tratamento controle em comparação aos tratamentos com glicerina.

Não houve diferença entre os coeficientes de digestibilidade da proteína bruta e extrato etéreo nas dietas avaliadas, no qual foram obtidos os respectivos valores médios, 76 e 88,1% ($P > 0,05$; Tabela 4). As digestibilidades da MS, MO, FDN e FDA nos tratamentos M10 e M15 foram superiores em média 17, 5, 12 e 12%, respectivamente em relação aos tratamentos P10 e P15. As digestibilidades da FSDN nas dietas P10 e P15 foram superiores às dietas M10 e M15, provavelmente influenciado pelo menor coeficiente de digestibilidade do tratamento M15 (78,9%). Entretanto para a digestibilidade do amido os tratamentos P10 e P15 apresentaram coeficientes médios inferiores ao dos tratamentos M10 e M15 (94 vs 95%, respectivamente).

Tabela 3 - Consumo de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra solúvel em detergente neutro (FSDN) e amido de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica associados à glicerina

Item	Dietas					EPM	Contrastes				
	CON	M10	M15	P10	P15		1	2	3	4	
	Consumo (kg/dia)										
MS	7,3	7,5	7,2	5,5	6,6	0,22	ns	ns	ns	*	
MO	6,7	7,0	6,7	5,0	6,0	0,21	ns	ns	ns	*	
FDN	2,4	2,5	2,3	1,8	2,1	0,07	ns	ns	ns	*	
FDA	1,8	1,8	1,8	1,4	1,6	0,05	ns	ns	ns	*	
PB	0,9	1,1	1,2	1,0	1,0	0,03	ns	ns	ns	*	
EE	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,01	ns	ns	*	ns	
FSDN	1,5	0,7	0,6	0,9	1,1	0,05	*	ns	ns	*	
Amido	2,6	2,3	2,0	1,2	1,4	0,10	*	ns	ns	*	

CON= ração sem adição de glicerina; M10= milho e 10% de glicerina; M15= milho e 15% de glicerina; P10= polpa cítrica e 10% de glicerina; P15= polpa cítrica e 15% de glicerina. Contrastes: 1 = CON vs tratamentos com glicerina, 2 = M10 vs M15, 3 = P10 vs P15, 4 = milho (M10 e M15) vs polpa (P10 e P15), ns = não significativo, *significativo a 0,05, EPM= erro padrão da média

Tabela 4 – Coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca e nutrientes de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica associados à glicerina

Item	Dietas					EPM	Contrastes				
	CON	M10	M15	P10	P15		1	2	3	4	
	Digestibilidade %										
MS	82,3	83,3	83,0	77,5	79,7	0,63	ns	ns	ns	*	
MO	83,7	84,5	84,1	79,6	81,0	0,58	ns	ns	ns	*	
FDN	73,3	72,6	72,1	64,0	65,8	1,18	ns	ns	ns	*	
FDA	71,4	70,9	71,4	62,2	65,4	1,25	ns	ns	ns	*	
PB	73,9	78,0	78,1	75,1	74,8	0,82	ns	ns	ns	ns	
EE	87,3	90,7	86,6	86,3	89,6	0,85	ns	ns	ns	ns	
FSDN	84,9	83,9	78,9	85,3	85,7	0,83	ns	*	ns	*	
Amido	94,6	95,2	94,9	94,0	93,9	0,22	ns	ns	ns	*	

MS = Matéria seca, MO = matéria orgânica, FDN = fibra em detergente neutro, FDA fibra em detergente ácido, PB= proteína bruta, EE= extrato etéreo, FSDN= fibra solúvel em detergente neutro. CON= ração sem adição de glicerina; M10= milho e 10% de glicerina; M15= milho e 15% de glicerina; P10= polpa cítrica e 10% de glicerina; P15= polpa cítrica e 15% de glicerina. Contrastes: 1 = CON vs tratamentos com glicerina, 2 = M10 vs M15, 3 = P10 vs P15, 4 = milho (M10 e M15) vs polpa (P10 e P15), ns = não significativo, *significativo a 0,05, EPM= erro padrão da média

pH, concentrações ruminiais de nitrogênio amoniacal e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC)

Não foram verificados efeitos de interação entre tempo de colheita e tratamentos para o pH ruminal, N-NH₃ e concentrações de AGCC (P>0,05), sendo discutidos apenas os efeitos principais. O pH ruminal, parâmetro indicativo da fermentação ruminal, não foi modificado pela dieta (P>0,05; Tabela 5) e apresentou valor médio mínimo (6,25) quatro horas após a alimentação.

Tabela 5 - Médias dos valores de pH do líquido ruminal, nitrogênio amoniacal (N-NH₃), concentrações de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e relação entre os ácidos acético e propiônico de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica associados à glicerina.

Item	Diets					EPM	Contrastes			
	CON	M10	M15	P10	P15		1	2	3	4
pH	6,27	6,38	6,39	6,53	6,31	0,02	ns	ns	ns	ns
N-NH ₃ (mg/dL)	19,74	17,93	18,27	16,54	17,46	2,94	ns	ns	ns	ns
Acético (mM)	59,1	45,3	41,8	47,7	49,2	0,94	*	ns	ns	ns
Propiônico (mM)	16,1	15,7	14,7	13,3	15,4	0,35	ns	ns	ns	ns
Butírico (mM)	9,2	10,9	10,9	9,4	13,4	0,33	*	ns	*	ns
Total AGCC (mM)	92,3	79,2	74,1	78,0	85,6	1,48	*	ns	ns	ns
Acético:Propiônico	3,7	2,9	2,8	3,6	3,2	0,08	*	ns	ns	*

CON= ração sem adição de glicerina; M10= milho e 10% de glicerina; M15= milho e 15% de glicerina; P10= polpa cítrica e 10% de glicerina; P15= polpa cítrica e 15% de glicerina. Contrastes: 1 = CON vs tratamentos com glicerina, 2 = M10 vs M15, 3 = P10 vs P15, 4 = milho (M10 e M15) vs polpa (P10 e P15), ns = não significativo, *significativo a 0,05, EPM= erro padrão da média.

Em média, o pH oscilou entre 6,55 e 6,34 nos tempos de 0 e 8 horas após alimentação, respectivamente e apresentou comportamento quadrático (P=0,002; $Y=0,0022X^2 - 0,207X + 6,756$; $R^2=0,94$; Figura 1). As concentrações de nitrogênio amoniacal também não foram influenciadas pelos tratamentos e apresentaram comportamento cúbico em função dos tempos de colheita (P<0,0001; $Y=1,233X^3 - 14,28X^2 + 46,28X - 18,02$; $R^2=0,99$; Figura 1) com valor máximo (28,22 mg/dL em média) uma hora após a alimentação e valor mínimo médio de 11,12 mg/dL seis horas após a alimentação.

A concentração de AGCC (mM) foi alterada principalmente pela adição de glicerina aos tratamentos ($P < 0,05$; Tabela 5) resultando em diminuição de 22,2% na concentração do ácido acético e de 14,2% na produção total de AGCC. Além disso, houve incremento na concentração de ácido butírico nos tratamentos com glicerina (média: 11,1 mM) em relação ao tratamento controle (9,2 mM). A produção de ácido propiônico não apresentou variação significativa e a concentração média foi de 15mM. A relação acetato: propionato também foi alterada em função dos tratamentos sendo que a maior relação foi observada no tratamento controle seguida dos tratamentos com polpa cítrica. A produção de ácido acético não teve alterações suficientes ao longo dos tempos de colheita para proporcionar resultado significativo ($P > 0,05$; Figura 2) sendo a produção média de $Y = 48,6$ mM. Os picos de produção dos ácidos propiônico, butírico e AGCCs totais situaram-se entre 1 e 2 horas após a alimentação e apresentaram comportamento cúbico ($P < 0,05$). As equações de regressão obtidas foram as seguintes: ácido propiônico $Y = 0,2806x^3 - 3,4798x^2 + 12,84x + 2,3$; $R^2 = 0,99$; ácido butírico $Y = 0,3102x^3 - 3,6552x^2 + 12,606x - 0,5667$; $R^2 = 0,98$ e AGCCs totais $Y = 1,238x^3 - 14,518x^2 + 49,101x + 39,333$ $R^2 = 0,95$.

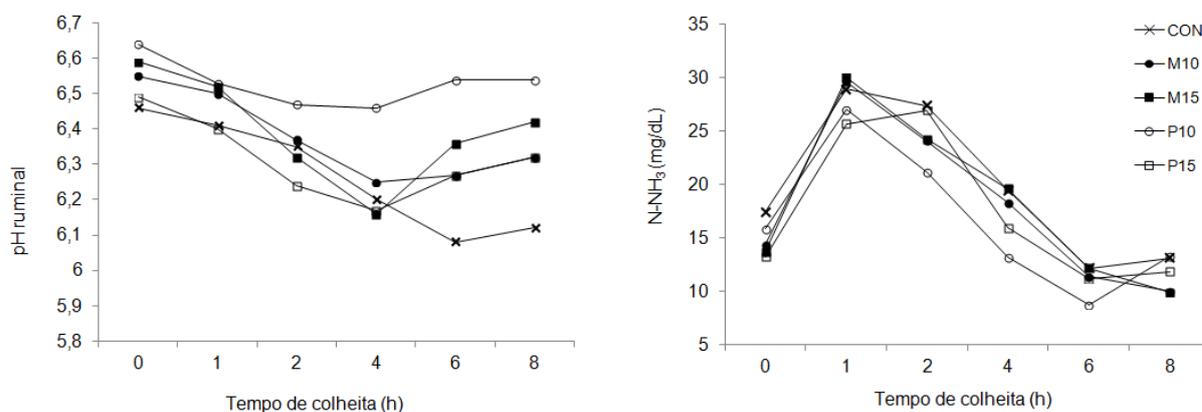


Figura 1- pH e N-NH₃ ruminais de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica em função dos tempos de colheita

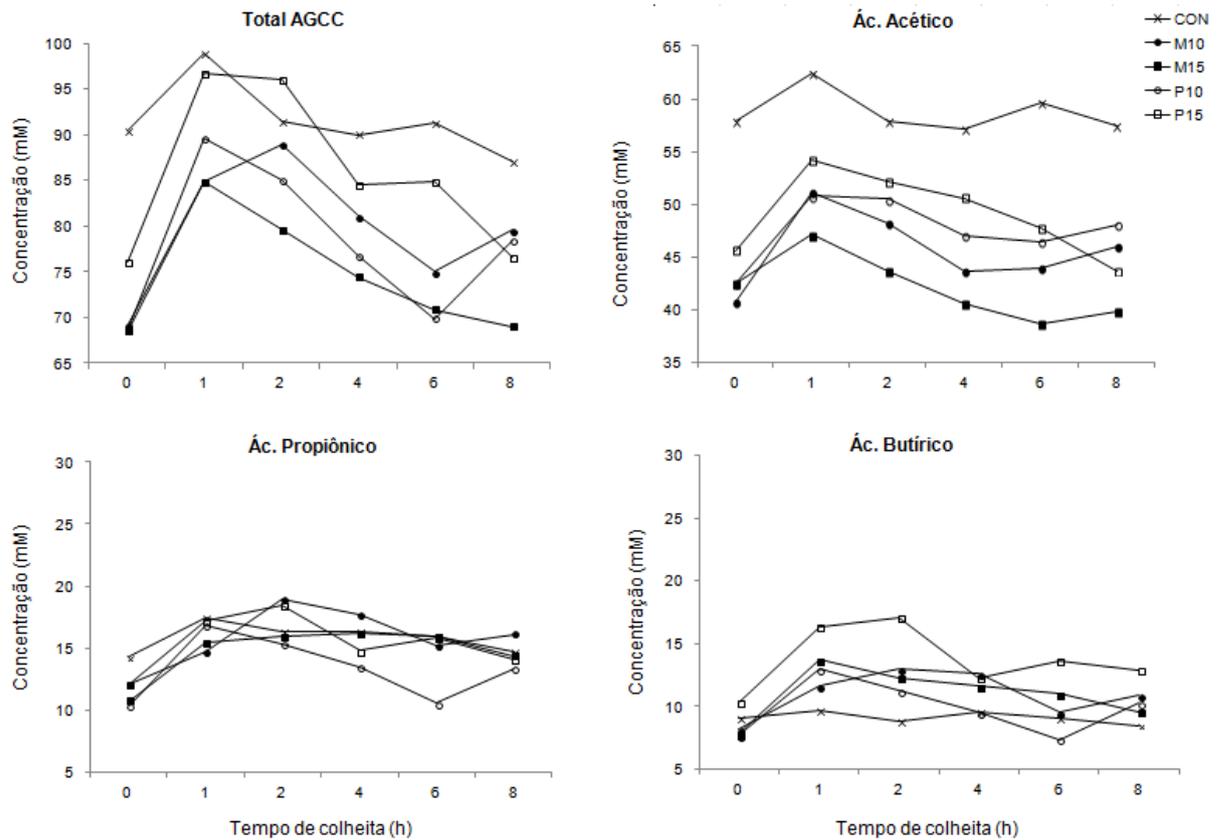


Figura 2 – Concentrações ruminais (mM) dos ácidos graxos de cadeia curta de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica em função dos tempos de colheita.

Produção de metano

Não foram verificadas diferenças quanto à produção de metano e gás carbônico entre as dietas avaliadas cuja produção média foi de 18,3 e 63,7 mL/gMS, respectivamente ($P > 0,05$; Tabela 6). A produção em litros de metano em função do consumo de MS das dietas foi semelhante entre os tratamentos, sendo a produção diária média de 124,1 litros de metano/animal.

Tabela 6 – Produção ruminal de gás metano (CH₄) e gás carbônico (CO₂) de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica associados à glicerina

Item	Dietas					EPM	Contrastes				
	CON	M10	M15	P10	P15		1	2	3	4	
	mL/g de MS										
CH ₄	18,4	16,4	18,7	18,1	19,7	0,96	ns	ns	ns	ns	
CO ₂	67,1	62,0	63,9	58,6	66,7	2,95	ns	ns	ns	ns	
	Litros/dia										
CH ₄	134,3	123,0	134,6	99,4	129,2	7,77	ns	ns	ns	ns	

CON= ração sem adição de glicerina; M10= milho e 10% de glicerina; M15= milho e 15% de glicerina; P10= polpa cítrica e 10% de glicerina; P15= polpa cítrica e 15% de glicerina. Contrastes: 1 = CON vs tratamentos com glicerina, 2 = M10 vs M15, 3 = P10 vs P15, 4 = milho (M10 e M15) vs polpa (P10 e P15), ns = não significativo, EPM= erro padrão da média.

Produção e composição da massa microbiana

A produção e composição da massa microbiana foi alterada em função das dietas ($P < 0,05$). Para as BLA não houve interação entre tratamentos e tempo de colheita ($P > 0,05$), portanto serão discutidos apenas os efeitos principais. Foram verificadas reduções nas produções de MS, MO e N (mg/L) e no teor de MO (%MS) nos tratamentos P10 e P15 em relação aos tratamentos M10 e M15 (Tabela 7). Em média, foram encontrados 489,9 mgMS/L para os tratamentos M10 e M15 e 383,2 mgMS/L para os tratamentos P10 e P15. Nos tratamentos P10 e P15 a redução na quantidade de matéria seca refletiu também na quantidade de MO e N das BLA. O teor de N teve alteração significativa somente entre os tratamentos P10 e P15 no qual o tratamento P15 foi superior ao P10. O tempo de colheita foi significativo apenas para o teor de MO, apresentando comportamento quadrático com elevação dos teores nos tempos 2 e 5 horas após a colheita e posterior queda no tempo 8 h.

A produção de MS e MO (mg/L) dos protozoários líquido associados não foi influenciada pela inclusão de glicerina nem pela associação desta com milho ou polpa cítrica (Tabela 8). Houve acréscimo do teor de N quando a glicerina passou de 10 para 15% da MS nos tratamentos com maior proporção de milho ($P < 0,05$). Em relação aos tempos de colheita todos os parâmetros avaliados apresentaram efeito quadrático, houve aumento na produção de MS, MO e N e no percentual de MO nos tempos 2 e 5 horas após a alimentação e queda no tempo 8 h, já para o teor de N%

observou-se efeito contrário, com redução do percentual nos tempos 2 e 5 h e aumento 8 horas após alimentação.

Tabela 7 – Produção e composição de bactérias líquido-associadas do rúmen de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica associados à glicerina.

	Dietas					EPM	Contrastes			
	CON	M10	M15	P10	P15		1	2	3	4
MS (mg/L)	456,5	496,8	483,1	391,7	374,7	13,18	ns	ns	ns	*
MO (mg/L)	352,2	387,1	381,5	299,6	288,1	10,67	ns	ns	ns	*
N (mg/L)	28,5	31,9	31,5	24,4	24,6	0,87	ns	ns	ns	*
MO(%MS)	77,1	77,6	77,3	76,2	75,9	0,24	ns	ns	ns	*
N (%MO)	8,2	8,2	8,4	8,3	8,7	0,06	ns	ns	*	ns
	Tempos de colheita (horas)									
	0	2	5	8			L	Q	C	
MS (mg/L)	419,4	434,1	441,8	467,0	13,18	ns	ns	ns		
MO (mg/L)	314,6	345,3	350,6	356,3	10,67	ns	ns	ns		
N (mg/L)	25,9	28,6	28,4	29,8	0,87	ns	ns	ns		
MO(%MS) ¹	75,7	77,7	77,4	76,5	0,24	ns	*	ns		
N (%MO)	8,2	8,5	8,3	8,4	0,06	ns	ns	ns		

CON= ração sem adição de glicerina; M10= milho e 10% de glicerina; M15= milho e 15% de glicerina; P10= polpa cítrica e 10% de glicerina; P15= polpa cítrica e 15% de glicerina. Contrastes: 1 = CON vs tratamentos com glicerina, 2 = M10 vs M15, 3 = P10 vs P15, 4 = milho (M10 e M15) vs polpa (P10 e P15), L= efeito linear dos tempos de colheita, Q= efeito quadrático dos tempos de colheita, C= efeito cúbico dos tempos de colheita, ns = não significativo, *significativo a 0,05, EPM= erro padrão da média. Equação de regressão: 1) $Y = -0,731x^2 + 3,864x + 72,64$; $R^2 = 0,93$.

Foi observada interação significativa entre tratamentos e tempo de colheita para a produção de nitrogênio dos protozoários ($P=0,01$; Tabela 9). O fator tempo de colheita não influenciou a produção de N (mg/L) nos tratamentos CON e M10, contudo os tratamentos M15 e P10 apresentaram comportamento cúbico, enquanto que o para o tratamento P15 o efeito foi quadrático. Nesses tratamentos houve aumento na produção de nitrogênio duas horas após a alimentação com posterior queda nos tempos mais distantes da alimentação e aumento na produção 8h após a alimentação para os tratamentos M15 e P10. O tratamento M15 foi o que apresentou maior produção de nitrogênio nos tempos 0 e 2 horas. Com exceção do tempo 5h, o tratamento P15 apresentou as menores produções em relação aos demais tratamentos.

Tabela 8 – Produção e composição de protozoários líquido-associados do rúmen de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica associados à glicerina.

	Dietas					EPM	Contrastes			
	CON	M10	M15	P10	P15		1	2	3	4
MS (mg/L)	1767,9	1528,9	1618,5	1671,9	1395,7	57,80	ns	ns	ns	ns
MO (mg/L)	1246,3	1110,4	1160,0	1204,2	988,8	44,39	ns	ns	ns	ns
MO(%MS)	70,1	71,7	71,5	70,7	70,0	0,43	ns	ns	ns	ns
N (%MO)	6,9	7,4	7,6	7,0	7,1	0,09	*	ns	ns	*
	Tempos de colheita (horas)									
	0	2	5	8			L	Q	C	
MS (mg/L) ¹	1375,3	1823,7	1708,1	1478,8	57,80	ns	*	ns		
MO (mg/L) ²	973,5	1344,2	1223,6	1026,5	44,39	ns	*	ns		
MO(%MS) ³	70,0	72,8	71,0	69,5	0,43	ns	*	ns		
N (%MO) ⁴	7,6	6,8	7,0	7,3	0,09	ns	*	ns		

CON= ração sem adição de glicerina; M10= milho e 10% de glicerina; M15= milho e 15% de glicerina; P10= polpa cítrica e 10% de glicerina; P15= polpa cítrica e 15% de glicerina. Contrastes: 1 = CON vs tratamentos com glicerina, 2 = M10 vs M15, 3 = P10 vs P15, 4 = milho (M10 e M15) vs polpa (P10 e P15), L= efeito linear dos tempos de colheita, Q= efeito quadrático dos tempos de colheita, C= efeito cúbico dos tempos de colheita, ns = não significativo, *significativo a 0,05, EPM= erro padrão da média. Equações de regressão: 1) $Y = -169,4x^2 + 866,6x + 700,6$; $R^2 = 0,92$; 2) $Y = -141,9x^2 + 713,6x + 422,6$; $R^2 = 0,90$; 3) $Y = -1,07x^2 + 5,04x + 66,27$; $R^2 = 0,81$; 4) $Y = 0,27x^2 - 1,44x + 8,72$; $R^2 = 0,89$.

Tabela 9 – Desdobramento da interação entre tratamento e tempo de colheita para a produção de nitrogênio dos protozoários líquido associados.

Dietas	Tempo de colheita (h)				EPM	Contrastes		
	0	2	5	8		L	Q	C
		Nitrogênio (mg/L)						
CON	86,4 ^{ab}	93,7 ^{ab}	81,6 ^{ab}	79,5 ^{ab}		ns	ns	ns
M10	74,3 ^{ab}	89,1 ^{ab}	77,7 ^b	89,6 ^a		ns	ns	ns
M15 ¹	95,7 ^a	117,9 ^a	67,4 ^b	72,8 ^{ab}	3,29	ns	ns	*
P10 ²	65,7 ^{ab}	110,1 ^a	74,6 ^b	82,7 ^{ab}		ns	ns	*
P15 ³	54,3 ^b	86,6 ^{ab}	84,3 ^a	51,1 ^b		ns	*	ns

CON= ração sem adição de glicerina; M10= milho e 10% de glicerina; M15= milho e 15% de glicerina; P10= polpa cítrica e 10% de glicerina; P15= polpa cítrica e 15% de glicerina. Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$). L= efeito linear dos tempos de colheita, Q= efeito quadrático dos tempos de colheita, C= efeito cúbico dos tempos de colheita, ns = não significativo, *significativo a 0,05, EPM= erro padrão da média. Equações de regressão: 1) $Y = 21,433x^3 - 164,95x^2 + 367,02x - 127,8$; $R^2 = 0,94$; 2) $Y = 20,583x^3 - 163,45x^2 + 390,67x - 182,1$; $R^2 = 0,95$; 3) $Y = -16,375x^2 + 80,685x - 9,825$; $R^2 = 0,99$.

As bactérias sólido aderidas foram as mais influenciadas pela inclusão de glicerina (Tabela 10), com reduções nas produções de MS, MO e N (mg/kg) nos tratamentos que continham glicerina em relação ao tratamento controle. A produção de MS também foi reduzida quando a concentração de glicerina passou de 10 para

15% nos tratamentos com maior concentração de milho. A utilização de polpa cítrica nos tratamentos com glicerina também ocasionou redução na produção de MS. Em média a quantidade de MS de BSA (mg/kg) no tratamento controle foi 8,3% superior aos tratamentos com glicerina (M10, M15, P10 e P15). Da mesma forma o teor de N (%MO) foi reduzido com a inclusão de glicerina e com o aumento da sua concentração no tratamento M15. Em relação aos tempos de colheita o efeito também foi quadrático mas, ao contrário do observado nos microrganismo da fase líquida, as BSA apresentaram redução no teor de N e na produção MS, MO e N nos tempos 2 e 5 horas após a alimentação com recuperação no tempo 8 h.

Tabela 10 – Produção e composição de bactérias sólido aderidas do rúmen de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica associados à glicerina.

	Dietas					EPM	Contrastes			
	CON	M10	M15	P10	P15		1	2	3	4
MS (mg/kg)	3571,8	3426,3	3332,1	3216,5	3117,7	59,39	*	*	ns	*
MO (mg/kg)	2801,1	2639,7	2540,5	2415,6	2362,2	49,22	*	ns	ns	ns
N (mg/kg)	237,5	225,6	222,2	208,6	209,0	4,40	*	ns	ns	ns
N (%MO)	8,5	8,5	8,8	8,6	8,8	0,04	*	*	ns	Ns
	Tempos de colheita (horas)									
	0	2	5	8			L	Q	C	
MS (mg/kg) ¹	3474,0	3205,2	3199,7	3531,3	59,39	ns	*	ns		
MO(mg/kg) ²	2660,0	2424,8	2433,8	2688,6	49,22	ns	*	ns		
N (mg/kg) ³	233,0	207,5	206,6	235,2	4,40	ns	*	ns		
N (%MO) ⁴	8,8	8,5	8,5	8,8	0,04	ns	*	ns		

CON= ração sem adição de glicerina; M10= milho e 10% de glicerina; M15= milho e 15% de glicerina; P10= polpa cítrica e 10% de glicerina; P15= polpa cítrica e 15% de glicerina. Contrastes: 1 = CON vs tratamentos com glicerina, 2 = M10 vs M15, 3 = P10 vs P15, 4 = milho (M10 e M15) vs polpa (P10 e P15), L= efeito linear dos tempos de colheita, Q= efeito quadrático dos tempos de colheita, C= efeito cúbico dos tempos de colheita, ns = não significativo, *significativo a 0,05, EPM= erro padrão da média. Equações de regressão: 1) $Y = 150,1x^2 - 733,8x + 4061,5$; $R^2 = 0,99$; 2) $Y = 122,5x^2 - 603,0x + 3140,6$; $R^2 = 0,98$; 3) $Y = 13,52x^2 - 67,05x + 286,7$; $R^2 = 0,99$; 4) $Y = 0,15x^2 - 0,75x + 9,4$; $R^2 = 1$.

Houve interação significativa entre os tratamentos e tempos de colheita para o percentual de MO das BSA ($P=0,02$; Tabela 11). O tempo de colheita influenciou os tratamentos CON e P15 no qual foram verificados efeitos quadráticos com menores teores de MO duas horas após a alimentação e incremento nos demais tempos de colheita. Para o tratamento P10 houve redução no percentual de MO a partir do

tempo 2h. O tratamento M10 foi o que apresentou os maiores percentuais de MO em relação aos demais tratamentos nos tempos 0, 2 e 5 horas após alimentação.

Tabela 11 – Desdobramento da interação entre tratamento e tempo de colheita para o teor de matéria orgânica das bactérias sólido aderidas.

Dietas	Tempo de colheita (h)				EPM	Contrastes		
	0	2	5	8		L	Q	C
	Matéria orgânica (%MS)							
CON ¹	76,2 ^{ab}	75,7 ^{abc}	75,9 ^{ab}	77,5 ^a		ns	*	ns
M10	77,4 ^a	77,2 ^a	77,1 ^a	76,6 ^{ab}		ns	ns	ns
M15	75,5 ^b	76,3 ^{ab}	76,6 ^a	75,7 ^{bc}	0,20	ns	ns	ns
P10 ²	76,7 ^{ab}	74,9 ^{bc}	74,2 ^b	74,7 ^c		*	ns	ns
P15 ³	76,6 ^{ab}	74,3 ^c	76,4 ^a	76,1 ^{abc}		ns	*	ns

CON= ração sem adição de glicerina; M10= milho e 10% de glicerina; M15= milho e 15% de glicerina; P10= polpa cítrica e 10% de glicerina; P15= polpa cítrica e 15% de glicerina. L= efeito linear dos tempos de colheita, Q= efeito quadrático dos tempos de colheita, C= efeito cúbico dos tempos de colheita, ns = não significativo, *significativo a 0,05, EPM= erro padrão da média. Equações de regressão: 1) $Y = 0,525x^2 - 2,215x + 77,925$; $R^2 = 0,98$; 2) $Y = -0,67x + 76,8$; $R^2 = 0,70$; 3) $Y = 0,5x^2 - 2,44x + 78,2$; $R^2 = 0,91$.

DISCUSSÃO

Consumo e digestibilidade da matéria seca e nutrientes

A fermentação ruminal da polpa cítrica difere daquelas observadas em fontes de cereais, visto que este coproduto não contém amido e é rico em pectina e fibra digestível, com menor produção de lactato e relação acetato:propionato maior que na fermentação de fontes ricas em amido (FEGEROS et al., 1995). Portanto, esperava-se efeito positivo da polpa cítrica no ambiente ruminal e, conseqüentemente, efeito positivo no consumo de MS, fato que não foi observado.

Provavelmente, algum fator relacionado à palatabilidade ou à natureza química da polpa cítrica tenha limitado o consumo. A palatabilidade da polpa pode variar com a inclusão de polpa de limão, com o tempo de armazenamento ou mesmo por erros de processamento, que podem causar redução na qualidade do produto e, conseqüentemente, reflexos negativos no consumo animal (FATURÍ et al., 2006). Os resultados obtidos neste estudo foram semelhantes aos divulgados

por Pereira et al. (2007) e Faturi et al. (2006) que observaram redução no consumo de MS em dietas com maior concentração de polpa cítrica (acima de 42% da dieta na MS) para bovinos em terminação.

A redução do consumo de MO, FDN, FDA e PB nos tratamentos P10 e P15 está associada à redução do consumo de MS. O consumo de FSDN e amido foram superiores no tratamento controle em relação aos demais tratamentos (contraste: CON vs tratamentos com glicerina, $P < 0,05$), pois para inclusão de glicerina, que não possui carboidratos em sua composição, foi necessário a redução de milho e polpa cítrica o que resultou em redução da concentração de fibra solúvel e amido nos tratamentos M10, M15, P10 e P15. Os maiores consumos de FSDN e amido na dieta controle nas dietas P10 e P15 e amido nas dietas M10 e M15 já eram esperados em função da composição das dietas (Tabela 2), que foram formuladas para proporcionar maior concentração de fibra solúvel ou amido.

A literatura aponta que a utilização de polpa cítrica melhora a fermentação ruminal e conseqüentemente a digestibilidade dos nutrientes, fato que não foi observado no presente estudo, pois houve redução nas digestibilidades da MS, MO, FDN e FDA nos tratamentos P10 e P15. Van Cleef et al. (2011) avaliaram a digestibilidade total e parcial de dietas contendo milho, casca de soja e polpa cítrica associados ao farelo de girassol ou ureia em novilhos confinados e obtiveram maiores digestibilidades da MS, PB, FDN e hemicelulose nas dietas com alto teor de polpa (44,8% da MS) associada à ureia.

É possível que a inclusão da glicerina à dieta com polpa cítrica tenha provocado alteração na população ruminal influenciando a digestibilidade dos nutrientes. Abo El-Nor et al. (2010) ao aumentarem a concentração de glicerina na dieta, verificaram redução na digestibilidade da FDN e redução na concentração de DNA das bactérias *Butyrivibrio fibrosolvens* e *Selenomonas ruminantium*, espécies relacionadas à degradação de carboidratos estruturais e não estruturais, respectivamente e também responsáveis pela degradação de açúcares solúveis.

A superioridade na digestibilidade da FSDN para os tratamentos P10 e P15 pode ser explicada pela concentração deste nutriente nessas dietas, em média 15%, que foi maior do que nos tratamentos M10 e M15, em média 8,4%, (Tabela 2). A hipótese é que a maior concentração de fibra solúvel nos tratamentos P10 e P15

favoreceu o desenvolvimento de bactérias, como a *Lachnospira multiparus*, responsável pela degradação da pectina (ARCURI, LOPES & CARNEIRO, 2006) aumentando assim o coeficiente de digestibilidade.

Morgado (2011) avaliou o efeito de dietas contendo alto teor de amido ou fibra solúvel na alimentação de cordeiros em terminação sobre a digestibilidade dos nutrientes e não observou alteração na digestibilidade da FSDN entre as fontes de carboidratos estudadas, em média 85,9%. Porém observou incremento na digestibilidade do amido na dieta que continha maior concentração desse carboidrato quando comparada à dieta com maior concentração de fibra solúvel (91,2 vs 86,9%). Concordando com os resultados de Morgado (2011), a digestibilidade do amido, neste trabalho, também foi influenciada ($P < 0,05$), os tratamentos P10 e P15 apresentaram digestibilidade inferior aos tratamentos M10 e M15 (em média 94 e 95%, respectivamente).

A redução na digestibilidade do amido nas dietas que continham maior proporção de polpa cítrica também pode estar relacionada à concentração desse nutriente. Nos tratamentos M10 e M15 a concentração média de amido foi de 28,4% já os tratamentos P10 e P15 a concentração média foi de 20,9%. Essas diferenças podem ter favorecido o crescimento de bactérias amilolíticas nos tratamentos M10 e M15 favorecendo a digestibilidade do amido, o que não ocorreu nos tratamentos P10 e P15.

A semelhança dos resultados de digestibilidade do amido e FSDN entre o tratamento controle e os tratamentos com glicerina permite inferir que as diferenças de digestibilidade do amido e da FSDN encontradas no contraste entre os tratamentos M10 e M15 vs P10 e P15 se referem à fonte de carboidrato utilizado e não à glicerina (Tabela 4).

pH, concentrações ruminiais de nitrogênio amoniacal e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC)

Em dietas com elevada proporção de concentrado, o pH abaixa rapidamente, podendo atingir valores muito ácidos que comprometem a saúde do rúmen, principalmente quando a fonte energética for o amido. Ao utilizar a polpa cítrica, a

redução pode ser menos drástica. A utilização de polpa cítrica na dieta está relacionada à produção de acetato no rúmen, diferente do milho que, em alta concentração, propicia produção de ácido láctico ocasionando a redução do pH. Nos tratamentos CON, M10, e M15 a polpa cítrica esteve presente em menor concentração (10,2% em média) em relação aos tratamentos P10 e P15 (22,5% em média), mas mesmo assim pode ter contribuído para a manutenção do pH ruminal, uma vez que, o menor valor encontrado foi 6,08 e não houve manutenção de baixos valores de pH após a alimentação.

Segundo Owens & Zinn (1988), quando a fonte de nitrogênio predominante é ureia, o pico da concentração de amônia ruminal ocorre entre 1 a 2 horas após a alimentação. A rápida elevação dos valores de $N-NH_3$ (uma hora após a alimentação) pode ser devido à quantidade de ureia nos tratamentos, em média 1,4% na MS, que é uma fonte de nitrogênio não proteico de rápida liberação no rúmen. A concentração de $N-NH_3$ mínima sugerida por Leng (1990) para maximização da digestão ruminal da matéria seca é de 10 mg/dL. Hoover (1986) debateu extensivamente o intervalo ótimo da concentração de nitrogênio amoniacal (3,3 a 21,5 mg/dL) para síntese de proteína microbiana, demonstrando que é muito variável a concentração de nitrogênio amoniacal para maximizar essa síntese.

Os valores de $N-NH_3$ obtidos neste trabalho (8,75 a 30,0 mg/dL) estão dentro da faixa considerada normal para atividade microbiana, uma vez que não houve manutenção de concentrações acima ou abaixo do ideal citado por Leng (1990) e por Hoover (1986). Boucher et al. (2007) verificaram que a concentração ótima de amônia ruminal para obtenção da máxima eficiência de síntese de proteína microbiana em dietas à base de silagem de milho (32% da MS da dieta) situou-se entre 11 e 13 mg de $N-NH_3$ /dL, no presente estudo esses valores foram obtidos nos tempos 6 e 8 horas após a alimentação.

A utilização de glicerina e os efeitos sobre a produção de AGCC apontam para o aumento na concentração de ácido propiônico e a redução do ácido acético no rúmen (DROUILLARD, 2008; AVILA-STAGNO et al., 2011; CARVALHO, et al., 2011; LEE et al., 2011; RAMOS & KERLEY 2011). Adicionalmente alguns autores como Wang et al., 2009 e Abo El-Nor et al., 2010 verificaram aumento na concentração de ácido butírico, porém sem alterações na concentração de

propionato quando a glicerina foi incluída nas dietas. Os resultados previamente obtidos concordam com os resultados deste estudo, no qual a utilização de glicerina ocasionou redução na concentração de ácido acético e aumento do ácido butírico no rúmen, contudo sem afetar a concentração de ácido propiônico. Aumento na concentração de butirato em dietas contendo glicerina também foi encontrado por Remond et al. (1993) que relataram que a proporção molar de butirato aumentou à custa de acetato.

Os diferentes substratos também podem proporcionar modificações nas concentrações de ácidos graxos de cadeia curta, os quais são responsáveis pela maior parte da energia aproveitada pelos ruminantes (BALDWIN, 1998; OLSON et al., 1999). Segundo Leiva, Hall & Van Horn (2000), as características fermentativas da fibra solúvel em detergente neutro difere da fermentação do amido de milho e tende a produzir mais acetato quando fermentada em comparação ao milho. Como pôde ser constatado, nas dietas com polpa cítrica a relação acetato:propionato foi maior quando comparada as dietas com milho. A dieta controle apresentou a maior relação acetato:propionato por ter alta concentração de polpa cítrica (20%) e consequentemente maior concentração de acetato.

Considerando a característica fermentativa da polpa cítrica, esperava-se que as dietas P10 e P15 apresentassem maior concentração de ácido acético em relação aos tratamentos M10 e M15. A redução da digestibilidade da fração fibrosa nos tratamentos P10 e P15 indica que houve redução da fermentação ruminal, fato que pode ter prejudicado produção deste AGCC oriundo da degradação da polpa cítrica. Essa conclusão pode ser fundamentada pelo fato de que o tratamento controle, que não teve redução nas digestibilidades dos nutrientes e continha 20% de polpa cítrica, apresentou maior concentração de ácido acético em relação aos demais tratamentos.

Produção de metano

No rúmen a glicerina é fermentada principalmente à propionato diminuindo a relação acetato:propionato (WANG et al., 2009) e, de acordo com Stradiotti Júnior et al. (2004), no ecossistema ruminal, há relação inversa entre a produção de metano e

de ácido propiônico. No presente estudo, a inclusão de glicerina não proporcionou aumento na concentração de propionato no rúmen portanto, a diminuição na relação acetato:propionato nos tratamentos com glicerina foi devido a redução na concentração de acetato, porém essa redução não foi suficiente para causar redução na produção de metano.

O'mara (2004) descreveu que a proporção de concentrado na dieta apresenta correlação negativa com a emissão de metano. Neste experimento a relação volumoso:concentrado foi a mesma para todos os tratamentos, o que contribuiu para produção de metano semelhante entre as dietas.

A ausência de efeito da glicerina sobre a produção de metano ruminal também foi observada por Avila-Stagno et al. (2013) avaliando cordeiros alimentados com concentrações crescentes de glicerina na dieta (0, 7, 14 e 21% da MS da dieta). Quanto ao tipo de carboidrato utilizado, Morgado (2011) avaliou diferentes fontes de carboidratos solúveis (amido e FSDN) em dietas para cordeiros em terminação e também não encontrou diferenças na produção desses gases, obtendo os seguintes valores médios 13,5 e 40,9 mL/gMS respectivamente para metano e gás carbônico.

A degradação de alimentos ricos em pectina, comparada à de alimentos ricos em amido, promove maior proporção da relação dos ácidos acético:propiônico e mínima produção de ácido láctico (STROBEL & RUSSEL, 1986), o que pode incrementar a produção de metano no rúmen. Como pode ser observado na Tabela 5, a relação acetato:propionato foi maior para o tratamento controle, seguido dos tratamentos com polpa cítrica e menor relação para os tratamentos com milho, entretanto a maior relação acetato:propionato não resultou em maior produção de metano nesse estudo.

Considerando que houve diferença significativa para o consumo de matéria seca (Tabela 3), foi estimada a produção diária em litros de metano para cada tratamento em função dos consumos dos mesmos, o que proporcionou redução apenas numérica na produção desse gás nos tratamentos P10 e P15, entretanto a redução na digestibilidade da MS, MO, FDN e FDA nesses tratamentos também contribuíram para redução da fermentação e conseqüentemente menor produção de

gases, o que pode ter proporcionado a semelhança na produção de metano e dióxido de carbono entre os demais tratamentos.

Produção e composição da massa microbiana

Os dados obtidos neste estudo de produção e composição dos microrganismos ruminais são de grande importância para a nutrição animal, tendo em vista que os modelos de predição do crescimento e da produção de leite requerem estimativas da síntese proteica microbiana (CECAVA et al., 1990) e poucos trabalhos avaliaram o efeito da inclusão de glicerina sobre a composição e produção de microrganismos ruminais.

A comparação entre o tratamento controle e tratamentos com glicerina não apontou diferença significativa para a produção de MS, MO e N e nem para os teores de MO e N das bactérias líquido associadas o que permite inferir que as BLA não foram influenciadas pela presença de glicerina, mas sim pela fonte de carboidrato (milho ou polpa cítrica). As reduções nas quantidades de MS, MO e N (mg/L) das BLA nos tratamentos P10 e P15 em relação aos tratamentos M10 e M15, são reflexo do baixo crescimento da flora microbiana nesses tratamentos, o que pode ter contribuído para a redução da digestibilidade da fração fibrosa (Tabela 4). A concentração média de MS de BLA (440,6 mg/L) no líquido ruminal foi inferior àquela obtida por Gonçalves (2010) que avaliou dietas contendo diferentes concentrações de amido e FSDN para ovinos e obteve em média 858,9 mg de MS de BLA/L de líquido ruminal. As variações observadas entre os experimentos que avaliaram a produção e a qualidade da massa microbiana são atribuídas às diferenças entre as técnicas adotadas para o isolamento dos microrganismos, além das diferenças de animais utilizados e de dietas avaliadas.

A alteração da porcentagem de MO das BLA entre os tempos de colheita apontou que logo após a alimentação houve aumento no percentual de MO e após esse período ocorreu redução no teor evidenciando que quanto mais distante do momento de alimentação, menor a porcentagem de MO observada. Os valores observados neste estudo são inferiores aos obtidos por demais trabalhos, como o de Ezequiel et al. (2002), os quais obtiveram valor médio de 81,6% e de Cecava et al.

(1990) constatando valor médio de 83%. De acordo com Martin, Willians & Michalet-Doreau (1994) a matéria mineral contida nas frações isoladas de microrganismo se deve, na sua maioria, à solução salina utilizada e ao número de lavagens em solução salina que a amostra foi submetida.

A composição dos protozoários foi pouco influenciada pelos tratamentos, somente o teor de N (%MO) aumentou com a inclusão de glicerina na dieta. A quantidade e composição dos PLA foram alteradas em função do tempo de colheita, com aumento na quantidade de MS, MO e N nos tempos 2 e 5 horas após a alimentação o que é compatível com a síntese de material celular (CRAIG et al., 1987) logo após a ingestão de alimentos. A quantidade de PLA (mg MS/L) encontrada neste estudo foi semelhante à obtida por Fávoro (2010), em média 1835,1 mg/L, ao avaliar concentrações crescentes de glicerina (até 20% da MS) na alimentação de bovinos mestiços.

A média da quantidade de MS em mg/kg de conteúdo ruminal das BSA foi superior quando comparada aos demais microrganismos BLA e PLA, evidenciando que, com o passar do tempo, as bactérias se aderem à fase sólida ou para se reproduzir ou para garantir o substrato. Porém, as bactérias sólido aderidas parecem ter sofrido influência da glicerina pois, ocorreu redução na produção de MS, MO e N (mg/kg) e no teor de N quando o tratamento controle foi comparado aos tratamentos com glicerina. Além disso, nos tratamentos M10 e M15 o aumento na concentração de glicerina de 10 para 15% promoveu redução da quantidade de MS e redução do teor de N (%MO). Os resultados obtidos concordam com Van Cleef (2012) que observou que o aumento na concentração de glicerina bruta em dietas para bovinos da raça Nelore promoveu diminuição na quantidade de bactérias sólido-aderidas (BSA) expressa em mg/kg de MS sendo mais evidenciada 4 horas após a alimentação matinal, mas não causou redução nas produções das BLA nem dos PLA.

Pesquisas preliminares indicam que a glicerina afeta o crescimento de algumas espécies bacterianas ruminais. Abo El-Nor et al. (2010) avaliaram a substituição do milho por glicerina nas concentrações de 0, 36, 72, e 108 g/kg de glicerina na matéria seca da dieta de vacas da raça Holandesa sobre a fermentação ruminal e observaram redução na concentração de DNA das bactérias *Butyrivibrio*

fibrosolvans e *Selenomonas ruminantium* com o aumento na concentração de glicerina da dieta. Entretanto, o mecanismo não está elucidado, pois a sensibilidade dos microrganismos pode variar de acordo com o nível de inclusão de glicerina na dieta. Além disso, a glicerina também pode interferir na adesão bacteriana às partículas de alimento (ROGER et al., 1992).

O resultado obtido neste ensaio é de extrema importância, visto que a grande maioria das bactérias que degradam a fração fibrosa está aderida à parede dos alimentos (MARTIN & MICHALET-DOREAU, 1995; MICHALET-DOREAU et al., 2001) e a diminuição da população de BSA ocasiona, conseqüentemente, prejuízos à digestibilidade da fibra, fato esse comprovado na presente tese. O mecanismo de ação da glicerina sobre as populações de bactérias fibrolíticas ainda não está claro, podendo estar relacionado a três fatores principais: a formação de um ambiente pouco favorável à multiplicação dessas bactérias, como osmolaridade e pH, o envolvimento das partículas fibrosas dificultando a aderência das bactérias e a competição ou preferência por outro substrato, no caso a glicerina.

Os resultados obtidos nesse estudo indicam que a glicerina afetou a população microbiana principalmente nos tratamentos com polpa cítrica, reduzindo a população de bactérias aderidas à fibra, prejudicando a digestibilidade da matéria seca e fração fibrosa. Como consequência a fermentação ruminal também foi reduzida o que pode ter refletido na concentração de ácido acético e produção de metano, uma vez que eram esperados maiores concentrações destes nos tratamentos com polpa cítrica. Dessa forma, sugere-se que outros estudos investiguem quais microrganismos estão envolvidos na degradação da fibra solúvel, e se a glicerina possui algum efeito inibitório sobre esses microrganismos.

CONCLUSÕES

A associação do milho com a glicerina parece ser mais indicada uma vez que não houve prejuízos no consumo e nem na digestibilidade dos nutrientes quando comparado aos tratamentos com polpa cítrica. A utilização de glicerina associada à

polpa cítrica necessita de maiores estudos relacionados às alterações da população de bactérias e a influência sobre a digestibilidade da fibra.

REFERÊNCIAS

ABO EL-NOR, S.; ABU GHAZELEH, A. A.; POTU, R. B.; HASTINGS, D.; KATTAB, M.S.A. Effects of differing levels of glycerol on rumen fermentation and bacteria. **Animal Feed Science and Technology**, v.162, p.99-105, 2010.

ARCURI, P.B.; LOPES, F.C.F.; CARNEIRO, J.C. Microbiologia do rúmen. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Eds). **Nutrição de Ruminantes**. 1 ed., p. 151-182, 2006.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURE CHEMISTS – A.O.A.C. **Official methods of the analysis**. 11^a ed. Washington, D.C., 1995

AVILA-STAGNO, J.; CHAVES, A.V.; HERNADEZ-CALVA, M.; BEAUCHEMIN, K.A; MCGINN, S.M.; WANG, Y.; HARSTAD, O.M.; McALLISTER, T.A. Effects of replacing barley grain in feedlot diets with increasing levels of glycerol on in vitro fermentation and methane production. **Animal Feed Science and Technology**, v.166-1667, p.265-268, 2011.

AVILA-STAGNO, J.; CHAVES, A.V.; HE, M.L.; HARSTAD, O.M.; BEAUCHEMIN, K.A; MCGINN, S.M.; McALLISTER, T.A. Effects of increasing concentrations of glycerol in concentrate diets on nutrient digestibility, methane emissions, growth, fatty acid profiles, and carcass traits of lambs. **Journal of Animal Science**, v.91, p.829-837, 2013.

BALDWIN, R.L. Use of isolated ruminal epithelial cells in the study of rumen metabolism. **Journal of Nutrition**, v.128, n.2, p.293-296, 1998.

BOUCHER, S.E.; ORDWAY, R.S.; WHITEHOUSE, N.L.; LUNDY, F.P.; KONONOFF, P.J.; SCHWAB, C.G. Effect of Incremental Urea Supplementation of a Conventional CornSilage-Based Diet on Ruminal Ammonia Concentration and Synthesis of Microbial Protein. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.5619–5633, 2007.

CARVALHO, E.R.; SCHMELZ-ROBERTS , N.C.; WHITE, H.M.; DOANE, P.H.; DONKIN, S.S. Replacing corn with glycerol in diets for transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.94, n.2, p.908–916, 2011.

CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; PEREIRA, J.C.; HENRIQUES, L.T.; FREITAS, S.G.; PAULINO, M.F. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.2, p.335-342, 2008.

CECAVA, M.J.; MERCHEN, N.R.; GAY, L.C.; BERGER, L.L. Composition of ruminal bacteria harvested from steers as influenced by dietary energy level, feeding frequency, and isolation techniques. **Journal of Dairy Science**, v.73, n.9, p.2480-2888, 1990.

COLEMAN, G.S. Rumen entodinomorph protozoa. In:TAYLOR, A. E. R.; BAKER, J.R. (Eds.) **Methods of Cultivating Parasites In Vitro**. Academic Press, London, p.39-54, 1978.

CRAIG, W.M.; BROWN, D.R.; BRODERICK, G.A.; RICKER, D.B. Post-prandial compositional changes of fluid–and particle–associated ruminal microorganisms. **Journal of Animal Science**, v. 65, p. 1042-1048, 1987.

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

DROUILLARD, J.S. Glycerin as a feed for ruminants: using glycerin in high concentrate diets. **Journal of Animal Science**, v.86, Suppl. 2, p.392, 2008

EUGÈNE, M.; ARCHIMÈDE, H; SAUVANT. D. Quantitative meta analysis on the effects of defaunation of the rumen on growth, intake and digestion in ruminants. **Livestock Science**, v.85, n.1, p.81-87, 2004.

EZEQUIEL, J.M.B.; MELÍCIO, S.P.L.; SANCANARI, J.B.D; FERREIRA, R.N; FEITOSA, J.V. Quantificação das bactérias sólido-aderidas, bactérias e protozoários líquido-associados do rúmen de bovinos jovens alimentados com amireia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.707-715, 2002.

FATURI, C.; EZEQUIEL, J.M.B.; FONTES, N.A.; STIAQUE, M.G.; SILVA, O.G.C. Fibra solúvel e amido como fontes de carboidratos para terminação de novilhos em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.5, p. 2110-2117, 2006.

FÁVARO, V.R. **Utilização de glicerina, subproduto do Biodiesel, na alimentação de bovinos**. 2010, 48f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias do Campus de Jaboticabal. Unesp, 2010.

FEGEROS, K.; ZERVAS, G.; STAMOULI, S.; APOSTOLAKI, E. Nutritive value of dried citrus pulp and its effects on milk yield and milk composition of lactating ewes. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 78, p. 1116-1121, 1995.

GASTALDI, K.A. **Produção in vitro de metano, dióxido de carbono e oxigênio utilizando líquido ruminal de bovinos alimentados com diferentes rações**. 2003, 104p. Tese (Doutorado em Zootecnia), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

GOMES, M.A.B.; MORAES, G.V.; MATAVELI, M.; MACEDO, F.A.F; CARNEIRO, T.C.; ROSSI, R.M. Performance and carcass characteristics of lambs fed on diets supplemented with glycerin from biodiesel production. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.10, p.2211-2219, 2011.

GONÇALVES, J.S. **Amido e fibra solúvel em detergente neutro em dietas para ovinos**. 2010, 85p. Tese (Doutorado em Zootecnia), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2010.

GUNN, P.J.; NEARY, M.K.; LEMENAGER, R.P.; LAKE, S.L. Effects of crude glycerin on performance and carcass characteristics of finishing wether lambs. **Journal of Animal Science**, v.88, p.1771-1776, 2010.

HALL, M.B. Neutral detergent-soluble carbohydrates nutritional relevance and analysis. Bulletin 339. University of Florida. 2000.

HENDRIX, D.L. 1993. Rapid extration and analysis of nonstructural carboydrates in plant tissues. **Crop Science**, v.33, p.1306-1311.

HENRIQUE, W.; SAMPAIO, A.A.M.; LEME, P.R.; ALLEONI, G.F; LANNA, D.P.D.; MALHEIROS, E.B. Digestibilidade e balanço de nitrogênio em ovinos alimentados à base de dietas com elevado teor de concentrado e níveis crescentes de polpa cítrica peletizada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.2007-2015, 2003.

HOOVER, W.H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal of Animal Science**, v.69, p.2755-2766, 1986.

LEE, S. Y.; LEE, S. M.; CHO, Y. B.; KAM, D. K.; LEE, S. C.; KIM, C. H.; SEO, S. Glycerol as a feed supplement for ruminants: in vitro fermentation characteristics and methane production. **Animal Feed Science and Technology**, v.166-167, p.269-274, 2011.

LEIVA, E.; HALL, M.B.; Van HORN, H.H. Performance of dairy cattle fed citrus pulp or corn products as source of neutral detergent-soluble carbohydrates. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.12, p.2866-2875, 2000.

LENG, R.A. Factors affecting the utilization of "poor-quality" forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutrition Research Review**, v.3, p.277-303, 1990.

MACH, N.; BACH, A.; DEVANT, M. Effects of crude glycerin supplementation on performance and meat quality of Holstein bulls fed high-concentration diets. **Journal of Animal Science**, v.87, p.632-638, 2009.

MARTIN, C.; MICHALET-DOREAU, B. Variations in mass and enzyme activity of rumen microorganisms: effect of barley and buffer supplements. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.67, n.3, p. 407-413, 1995.

MARTIN, C.; WILLIAMS, A.G.; MICHALET-DOREAU, B. Isolation and characteristics of the protozoal and bacterial fractions from bovine ruminal contents. **Journal of Animal Science**, v.72, n.11, p.2962-2968, 1994.

MICHALET-DOREAU, B.; FERNANDEZ, I.; PEYRON, C.; MILLET, L.; FONTY, G. Fibrolytic activities and cellulolytic bacterial community structure in the solid and liquid phases of rumen contents. **Reproduction Nutrition Development**, v. 41, n. 2, p. 187-194, 2001.

MORGADO, E.S. **Óleo em dietas para ovinos alimentados com amido ou fibras solúveis em detergente neutro**. 2011. 122 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2011.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 1996. 242p.

OLSON, K.C.; R.C. COCHRAN; T.J. JONES; E.S. VANZANT; E.C. TITGEMEYER; D.E. JOHNSON. Effects of ruminal administration of degradable intake protein and starch on utilization of low quality warm season grass hay by beef steers. **Journal of Animal Science**, v.77, n.4, p.1016-1025, 1999.

O'MARA, F. Greenhouse gas production from dairying: reduction methane production. **Advances in Dairy Technology**, v.16, p.295-309, 2004.

OWENS, F. N., ZINN, R. Protein metabolism of ruminant animals. In: CHURCH, D. C. **The Ruminant Animal**. Englewood Cliffs: Waveland Press, cap.12, p.227-249, 1988.

PAGGI, R.A., FAY, J.P., FAVERIN, C. In vitro ruminal digestibility of oat hay and cellulolytic activity in the presence of increasing concentrations of short-chain acids and glycerol. **Journal of Agriculture Science**. v.142, p.89-96, 2004.

PARSONS, G.L.; DROUILLARD, J.S. Effects of crude glycerin on ruminal metabolism and diet digestibility in flaked corn finishing diets. **Journal of Animal Science**. v.88 (Suppl. 3), p.96 (Abstr.), 2010.

PARSONS, G.L.; SHELOR, M.K.; DROUILLARD, J.S. Performance and carcass traits of finishing heifers fed crude glycerin. **Journal of Animal Science**, v.87, p.653-657, 2009.

PEREIRA, E.M.; SANTOS, F.A.P.; NUSSIO, L.G.; PEDROSO, A.M.; COSTA, D.F.A.; IMAIZUMI, H.; BITTAR, C.M.M. Estimativa de energia metabolizável de rações com polpa cítrica em substituição ao milho para tourinhos em terminação **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.1, p.216-224, 2007

PINTO, A.C.; GUARIEIRO, L.L.N.; REZENDE, M.J.C; RIBEIRO, N.M.; TORRES, E.A.; LOPES, W.A.; PEREIRA, P.A.P.; ANDRADE, J.B. Biodiesel: An overview. **Journal Brazilian Chemistry Society**, v.16, n.6B, p.1313-1330, 2005.

PYATT, N.A.; DOANE, P.H.; CECAVA, M.J.; Effect of crude glycerin in finishing cattle diets. **Journal of Animal Science**, v.85, Suppl. 1, p.412 (Abstract 530), 2007

RAMOS, M.H. & KERLEY, M. S. Effect of dietary crude glycerol level on ruminal fermentation in continuous culture and growth performance of beef calves. **Journal of Animal Science**, October 28, 2011 jas.2011-4099; published ahead of print October 28, 2011, doi:10.2527/jas.2011-4099, 2011.

RÉMOND, B. *In vitro* and *in vivo* fermentation of glycerol by rumen microbes. **Animal Feed Science and Technology**, v.41, p.121-132, 1993.

ROGER, V.; FONTY, G.; ANDRE, C.; GOUET, P. Effects of glycerol on the growth, adhesion and cellulolytic activity of rumen cellulolytic bacteria and anaerobic fungi. **Current Microbiology** v.25, p.197-201, 1992

SCHNEIDER, C.J. **Crude glycerin in feedlot cattle diets and as a solvent in maillard reaction processes intended for manufacturing value-added protein meals**. 2010. 90f. Tese. - Kansas State University, Manhattan, KS, 2010.

STRADIOTTI JUNIOR, D.; QUEIROZ, A.C.; LANA, R.P.; PACHECO, C.G.; CAMARDELLI, M.M.L.; DETMANN, E.; EIFERT, E.C.; NUNES, P.M.M.; OLIVEIRA, M.V.M. Ação do extrato de própolis sobre a fermentação *in vitro* de diferentes alimentos pela técnica de produção de gases. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.4, p. 1093-1099, 2004.

STROBEL, H.J.; RUSSEL, J.B. Effect on pH and energy spilling on bacterial protein syntesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. **Journal of Dairy Science**, v.69, p.2941-2947, 1986.

VAN CLEEF, E.H.C.B.; EZEQUIEL, J.M.B; FONTES, N.A. FATURI, C.; OLIVEIRA, P.N.; STIAQUI, M.G. Consumo e digestibilidade de dietas contendo fontes energéticas associadas ao farelo de girassol ou ureia em novilhos confinados. **Acta Scientiarum**. v. 33, n. 2, p. 163-168, 2011

VAN CLEEF, E.H.C.B. **Glicerina bruta em dietas de bovinos da raça nelore confinados**. Tese (Doutorado em Zootecnia). 2012. 117 f. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2012.

VAN SOEST, P. J.; WINE, R.H. Use of detergents in analysis of fibrous feeds. IV. Determinations of plant cell-wall constituents. **Journal of the Association Official Analytical Chemists**, v.50, 1967.

VIEIRA, P. F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteína e lipídeos em rações para ruminantes**. 1980. 98f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG, 1980.

WANG, C., LIU, Q., HUO, W.J., YANG, W.Z., DONG, K.H., HUANG, Y.X., GUO, G. Effects of glycerol on rumen fermentation, urinary excretion of purine derivatives and feed digestibility in steers. **Livestock Science**, v.121, p.15–20, 2009.

CAPÍTULO 3 – CONSUMO, DESEMPENHO, CARACTERÍSTICAS DA CARÇAÇA E DA CARNE DE BOVINOS ALIMENTADOS COM MILHO E POLPA CÍTRICA ASSOCIADOS À GLICERINA

RESUMO - Trinta bovinos da raça Nelore foram confinados e distribuídos em delineamento experimental inteiramente casualizado para avaliar a associação do milho ou polpa cítrica com glicerina, em concentrações de 10 e 15% da matéria seca, e seus efeitos sobre consumo de matéria seca e nutrientes, desempenho em confinamento, características da carcaça e da carne, comportamento ingestivo e parâmetros sanguíneos. Cinco dietas foram fornecidas e denominadas de: CON - sem adição de glicerina; M10 – milho e 10% de glicerina; M15 – milho e 15% de glicerina; P10 – polpa cítrica e 10% de glicerina; P15 – polpa cítrica e 15% de glicerina. Foram realizados contrastes ortogonais para verificar as significâncias entre: CON vs tratamentos com glicerina, M10 vs M15, P10 vs P15 e (M10 e M15) vs (P10 e P15) através do programa SAS. Não houve diferença entre os tratamentos ($P>0,05$) para o consumo de matéria seca, ganho em peso médio diário, eficiência alimentar e conversão alimentar, os quais apresentaram os respectivos valores médios: 10,62 kg/dia; 1,51 kg/dia; 0,14 e 7,29. As características da carcaça, também não foram influenciadas pelos tratamentos ($P>0,05$). A inclusão de glicerina provocou redução na intensidade de amarelo e aumento no percentual dos ácidos graxos pentadecanóico e heptadecenóico na carne ($P<0,05$). Os tratamentos não influenciaram ($P>0,05$) as concentrações de glicose nem de colesterol (média de 83,3 e 114,6 mg/dL, respectivamente). Houve efeito significativo para as concentrações de triglicerídeos entre os tratamentos, no qual o tratamento M15 apresentou valor superior (18 mg/dL) ao tratamento M10 (11,3 mg/dL). Em relação à avaliação da atividade enzimática (fosfatase alcalina, AST e GGT) não houve alteração em função das dietas ($P>0,05$), porém os valores de GGT ficaram acima do recomendado na literatura indicando possível sobrecarga na atividade hepática, o que pode estar relacionada ao alto concentrado das dietas (70%). O comportamento ingestivo dos animais não foi alterado pelas dietas ($P>0,05$). A utilização glicerina associada ao milho ou polpa cítrica é indicada pois não influenciou negativamente o consumo nem o desempenho animal.

Palavras-chave: amido, biodiesel, confinamento, fibra solúvel em detergente neutro

INTRODUÇÃO

A nutrição é um dos fatores de maior importância em sistemas de produção de bovinos, principalmente em situações onde os animais se encontram confinados, pois nesse sistema, o custo com alimentação tem grande impacto sobre o custo total da atividade (LOPES et al., 2011). O interesse dos confinadores de bovinos de corte por alternativas alimentares vem crescendo, e esta tendência se acentua de forma significativa com os elevados preços do milho. A utilização de subprodutos na alimentação de ruminantes substituindo ingredientes nobres da dieta como o milho e farelo de soja surge como alternativa que atende a duas demandas: maximização de lucros e redução do acúmulo destes materiais no ambiente (PRADO & MOREIRA, 2002). Nos últimos anos, os nutricionistas de ruminantes tem demonstrado interesse em pesquisar os produtos derivados da indústria do biodiesel, especialmente a glicerina.

Assumindo que cerca de 10% de todo o biodiesel produzido corresponde à glicerina (DASARI et al., 2005), calcula-se que o Brasil produz em torno de 240 milhões de litros de glicerina por ano. A demanda nacional de glicerina é de aproximadamente 40 milhões de litros, gerando um excedente de 200 milhões de litros, que devem ter um destino ambientalmente correto e economicamente viável.

A utilização bem sucedida de subprodutos, como a glicerina, é muitas vezes limitada tanto pelo escasso conhecimento de suas características nutricionais e de seu valor econômico como componentes para ração, quanto pela falta de dados de desempenho de animais alimentados com esse tipo de alimento.

Animais criados em sistemas de confinamento recebem dietas contendo altos teores de grãos que possuem elevadas concentrações de carboidratos de rápida fermentação ruminal, como o amido, podendo provocar redução significativa no pH ruminal e na digestão da fibra, que por sua vez pode reduzir a ingestão de alimentos (HOOVER, 1986), e causar distúrbios digestivos. Por outro lado, alimentos ricos em pectina, promovem padrão de fermentação ruminal semelhante a dietas à base de volumoso, produzindo quantidades menores de ácido lático, mantendo o pH ruminal próximo a neutralidade (STROBELL & RUSSELL, 1986), proporcionando condição

ruminal mais favorável para a digestão da fibra (BEN-GHEDALIA et al., 1989) em comparação a monossacarídeos, dissacarídeos e amido.

A utilização de polpa cítrica para animais em confinamento deve ser melhor explorada, pois este subproduto pode substituir parte ou a totalidade do milho nas rações de ruminantes (LEIVA, HALL & Van HORN, 2000; PRADO et al., 2000; SCHALCH et al., 2001; MIRON et al., 2002; RODRIGUES et al., 2008) como ingrediente de alta densidade energética para animais em crescimento e lactação e tem pouco ou nenhum efeito negativo na fermentação ruminal em comparação a alimentos ricos em amido, como o milho (BAMPIDIS & ROBINSON, 2006).

Os estudos realizados avaliando a introdução da glicerina em dietas para bovinos de corte indica ser viável economicamente quando esse subproduto é incluído em até 15%, apresentando efeito negativo na ingestão de matéria seca, na maioria dos casos, porém sem afetar significativamente no ganho em peso dos animais, conseqüentemente, melhorando a eficiência alimentar (PYATT, DOANE & CECAVA, 2007; PARSONS, SHELOR & DROUILLARD, 2009). Contudo na maioria dos trabalhos a glicerina foi avaliada em substituição ao milho da dieta. Dessa forma o estudo da glicerina associada com outras fontes energéticas com custo inferior ao milho é pertinente, uma vez que pode auxiliar na redução dos custos com alimentação dos animais confinados.

Objetivou-se com esse estudo avaliar a associação da glicerina ao milho e polpa cítrica em dietas para bovinos confinados sobre o consumo de matéria seca e nutrientes, desempenho em confinamento, características quantitativas da carcaça e qualitativas da carne, comportamento ingestivo e parâmetros sanguíneos.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi conduzido de acordo com as normas éticas e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Unesp/Jaboticabal (número do protocolo 021578/11).

Local de condução do experimento

O experimento foi conduzido no confinamento do Setor de Digestibilidade pertencente ao Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual Paulista - Unesp, Câmpus de Jaboticabal.

Dietas experimentais

As dietas experimentais foram formuladas de acordo com o NRC (1996) para proporcionar ganho de peso diário de 1,4 kg. A relação volumoso:concentrado foi de 30:70 com base na matéria seca sendo que a dieta continha em média 12,15% de proteína bruta e 2,79 Mcal de energia metabolizável/kg de MS. A silagem de milho foi o volumoso e o concentrado, composto por milho em grão, polpa cítrica peletizada, casca de soja, ureia, glicerina, calcário calcítico, fosfato bicálcico e suplemento mineral. A glicerina utilizada foi obtida do óleo de soja e apresentou 83% de glicerol, 11% de água, 6% de sais (dos quais 99% eram NaCl) e 0,01% de metanol (Caramuru Alimentos Ltda.). Na Tabela 1 encontra-se a composição bromatológica dos ingredientes e na Tabela 2 a porcentagem dos ingredientes e a composição bromatológica das dietas experimentais.

Tabela 1 - Matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), amido, fibra solúvel em detergente neutro (FSDN), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) dos ingredientes utilizados na formulação das dietas experimentais.

Ingredientes	MS (%)	MO	FDN	FDA	Amido % MS	FSDN	PB	EE
Silagem de milho	30,6	96,1	46,4	33,3	34,7	8,6	8,2	4,0
Milho grão	88,8	98,7	10,0	4,8	60,0	5,0	9,9	5,2
Polpa cítrica	89,2	91,1	20,3	12,3	7,6	48,0	7,6	3,1
Casca de soja	88,7	93,9	70,6	58,8	6,9	7,5	12,3	3,4

Análises realizadas no laboratório de ingredientes e gases poluentes, da Universidade Estadual Paulista – Unesp, câmpus de Jaboticabal.

Manejo dos animais

No ensaio de desempenho foram utilizados 30 bovinos da raça Nelore, machos não castrados, com aproximadamente 18 meses de idade e peso corporal

inicial médio de 402 ± 31 kg, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado com seis repetições por tratamento.

O período total de confinamento foi de 100 dias, sendo os primeiros 25 dias destinados à adaptação dos animais ao manejo, às instalações e à dieta e 75 dias de período experimental. Portanto o experimento foi dividido em quatro períodos de 25 dias, sendo o primeiro para adaptação e os demais para avaliações de consumo e ganho em peso diário.

Tabela 2 - Porcentagem dos ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais (% MS)

Ingredientes	Dietas				
	CON	M10	M15	P10	P15
Silagem de milho	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00
Milho	29,35	29,30	24,30	12,40	12,55
Polpa cítrica	20,00	6,00	6,10	25,00	20,00
Casca de soja	18,15	21,80	21,50	19,70	19,40
Glicerina	0,00	10,00	15,00	10,00	15,00
Ureia	1,10	1,30	1,50	1,50	1,60
Calcário calcítico	0,20	0,25	0,25	0,00	0,00
Fosfato bicálcico	0,70	0,85	0,85	0,90	0,95
Suplemento mineral ¹	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
	Composição nutricional (%MS)				
PB	12,16	12,07	12,20	12,17	12,13
EM (Mcal/kg)	2,79	2,80	2,82	2,76	2,78
FDN	33,38	32,97	32,78	33,65	32,93
FSDN	14,99	8,52	8,35	16,64	14,28
Amido	30,78	29,92	26,96	21,09	20,82

CON= Controle, sem adição de glicerina; M10= milho e 10% de glicerina; M15= milho e 15% de glicerina; P10= polpa cítrica e 10% de glicerina; P15= polpa cítrica e 15% de glicerina. PB= Proteína bruta; EM= energia metabolizável; FDN= fibra em detergente neutro; FSDN= fibra solúvel em detergente neutro; ¹Suplemento Mineral para Bovinos, níveis de garantia por 1000g do produto: Fósforo 40g, Cálcio 80g, Sódio 195g, Cloro 300g, Magnésio 5g, Enxofre 26g, Zinco 2000mg, Cobre 1000mg, Manganês 500mg, Cobalto 100mg, Iodo 100mg, Selênio 5mg, Flúor (máx.) 400mg, veículo q.s.p. 1000g

Foram realizados no total cinco pesagens, sendo a primeira no início da adaptação e posteriormente no início do período de avaliação, a cada 25 dias do mesmo, bem como no final, sempre após um jejum alimentar de 14 horas, para acompanhamento da evolução do peso e do ganho em peso diário. Os dados

referentes ao ganho médio de peso diário foram obtidos dividindo-se o ganho de peso pelo número total de dias de confinamento, no período de avaliação.

A alimentação foi oferecida duas vezes ao dia, as 8 e 16h. As rações foram fornecidas para que as sobras não ultrapassassem 10% do oferecido, sendo aferidas anteriormente à refeição da manhã. O consumo de matéria seca foi avaliado diariamente, através da retirada e pesagem das sobras de alimentos no cocho. A amostragem das sobras foi feita nos três períodos de avaliação durante sete dias consecutivos em cada período. As amostragens do concentrado fornecido e ingredientes foram feitas no mesmo período. Ao final do confinamento as amostras foram secas em estufa com circulação forçada de ar em temperatura de 55 °C por 72 horas e em seguida moídas em moinho de facas dotado com peneira com crivos de 1mm e posteriormente misturadas, para formar amostras compostas de sobras e de alimentos. As amostras foram analisadas para teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) segundo AOAC (1995) fibra solúvel em detergente neutro (FSDN) de acordo com Hall (2000) e amido conforme metodologia de Hendrix (1993). A fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinadas utilizando as soluções propostas por Van Soest & Wine (1967) e a solubilização realizada em autoclave (0,5 Kgf/cm², 111 °C por 50 minutos). A FDA foi determinada de forma sequencial devido a utilização de polpa cítrica nas dietas.

Durante as pesagens do período experimental foram colhidas amostras de sangue dos animais em jejum, as quais foram colhidas através de punção da veia coccígea, utilizando tubos Vacuotainer®. As amostras foram colhidas em 2 tubos, sendo que um deles continha anticoagulante para análise de glicose. As amostras foram centrifugadas a 1000 × g por 20 minutos, para a determinação das concentrações sanguíneas de ureia, creatinina, glicose, colesterol, triglicerídeos e proteínas totais, fosfatase alcalina, aspartato aminotransferase (AST) e gama-glutamilttransferase (GGT) através de kits comerciais Labtest®.

Foram determinados ao final do ensaio, o ganho médio diário (GMD), a conversão alimentar (CA) e eficiência alimentar (EA). Ao final dos 100 dias de confinamento os animais foram submetidos a um período de jejum de sólidos de 24 horas, e levados ao frigorífico onde foram abatidos. O abate seguiu os

procedimentos de atordoamento por concussão cerebral, utilizando-se pistola de ar comprimido e posterior sangria por secção da jugular.

No abate, foram obtidos os pesos de carcaça quente (PCQ) e o rendimento de carcaça quente (RCQ) foi obtido pela relação entre o peso de carcaça quente e o peso de abate, expresso em porcentagem. Após o resfriamento por 24 horas em câmara frigorífica a 4°C, as carcaças foram novamente pesadas para a obtenção do peso de carcaça fria (PCF) em seguida calculada a perda por resfriamento (PR) e realizada a medição do pH com peagâmetro digital com eletrodo de penetração. Posteriormente, foi retirada, da meia carcaça esquerda, uma seção do músculo *Longissimus*, compreendida entre a 12^a e 13^a costelas, objetivando a realização das medidas de área de olho de lombo (AOL), desenhando a área em papel vegetal, e a espessura de gordura de cobertura (EGC), a qual foi mensurada no terceiro quarto do músculo, a partir da coluna vertebral, perpendicularmente ao músculo, com o auxílio de um paquímetro digital (TULLIO, 2004).

Após as medidas, foi retirada amostra do contrafilé na altura da 12^a costela, com aproximadamente 2,5 cm. As amostras foram devidamente identificadas e congeladas a -20 °C para posterior determinação das características qualitativas da carne. Para determinação da cor do músculo e da gordura, efetuaram-se três medidas, utilizando o colorímetro Minolta CR-400, previamente calibrado para padrão branco e por meio do sistema CIELAB. Obtiveram-se os valores de L* (luminosidade), a* (intensidade de vermelho) e b* (intensidade de amarelo).

A capacidade de retenção de água (CRA) foi obtida por diferença entre os pesos de uma amostra de carne, de aproximadamente 2 g, antes e depois de ser submetida à pressão de 10 kg, durante 5 minutos. Posteriormente, os bifes obtidos do contrafilé foram assados em forno a gás à temperatura de 175° C, até atingir 75° C no seu centro geométrico. Os pesos dos bifes antes e depois da cocção foram utilizados para o cálculo das perdas por cocção (PC). Após o resfriamento dos bifes assados, foram retirados cilindros, utilizando-se um vazador com 2 cm de diâmetro, para determinar a força necessária para cortar transversalmente cada cilindro em texturômetro acoplado à lâmina Warner-Bratzler. Foi então calculada a média de força de corte dos cilindros para representar a força de cisalhamento (FC) de cada amostra.

Os teores de colesterol da carne foram determinados conforme metodologia descrita por Al Hasanai et al. (1993) no qual foi quantificado em cromatografia gasosa e sua identificação por comparação com padrões da Sigma®, após a verificação da linearidade do método, através de soluções de colesterol padrão com diferentes concentrações.

A extração dos ácidos graxos foi realizada conforme metodologia de Bligh & Dyer (1959). As determinações qualitativas do perfil de ácidos graxos foram feitas por meio de cromatografia gasosa em cromatógrafo Shimadzu, modelo GC-14B, com detector de ionização de chama (FID), utilizando coluna capilar de sílica fundida de 30 m de comprimento, diâmetro de 0,25 mm e 0,25 µm de espessura do filme (Supelco Omegawax 250). O gás de arraste utilizado foi o hidrogênio, com fluxo ajustado a 1 mL/minuto. O volume de injeção foi de 1 µL, com razão “split” de 1:100. A temperatura do forno foi programada para iniciar em 100°C permanecendo assim por 2 minutos, então levada a 220°C, à taxa de 4°C/minuto, e permanecendo nessa temperatura por 25 minutos. A temperatura do detector foi de 280°C e a do injetor, de 250°C, com o fluxo dos gases de 23, 50 e 180 kPa para o ar sintético, o hidrogênio e o nitrogênio, respectivamente.

Comportamento ingestivo

A colheita de dados para avaliação do comportamento ingestivo ocorreu durante três dias de observações, no período diurno durante 12 h. Em cada período, a observação do comportamento ingestivo foi feita de modo focal direta, com intervalo amostral de cinco minutos. Foram utilizados três observadores previamente treinados (um para cada dez animais). Foram registrados os tempos diários despendidos (horas/dia) com consumo de alimento e água, ruminando deitado ou em pé, ócio deitado ou em pé e outras atividades, como sendo nada relacionado aos itens anteriores, por exemplo, se coçando, segundo metodologia de Bürger et al. (2000).

Para o tempo de ruminação foram somados os tempos de regurgitação, remastigação e redeglutição do bolo alimentar. O tempo de consumo foi o somatório

dos tempos de apreensão, mastigação e deglutição do alimento, e o ócio foi considerado quando os animais não estiveram se alimentando nem ruminando.

A média do número de mastigações meréricas por bolo ruminal (NMB) e o tempo, em segundos, despendido na mastigação merérica por bolo ruminal (TMB) foram obtidos através de observações por animal ruminando em cada período de avaliação, totalizando ao menos seis observações por animal, por período. Para o registro do TMB utilizou-se cronômetro digital (POLLI et al., 1996).

Análise estatística

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado. Os dados foram analisados utilizando o procedimento MIXED do programa estatístico SAS (SAS 9.2, SAS Institute, Carry, NC, USA), conforme o modelo estatístico: $Y = \mu + D_i + e_i$, em que μ = média geral, D_i = efeito da dieta ($i = 1$ a 5) e e_i = erro residual. O peso inicial dos animais foi considerado covariável.

Foram realizados contrastes ortogonais para verificar as significâncias ($P < 0,05$) entre: CON vs tratamentos com glicerina (M10, M15, P10 e P15), M10 vs M15, P10 vs P15 e milho (M10 e M15) vs polpa (P10 e P15).

RESULTADOS

Consumo e desempenho em confinamento

Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre as dietas experimentais quanto aos consumos de MS, MO, FDN, FDA, PB e EE cujos respectivos valores médios foram 10,7; 10,0; 3,6; 2,8; 1,6 e 0,3 kg/dia. Os resultados de consumo expressos em %PV e peso metabólico ($\text{g/kg PV}^{0,75}$) foram semelhantes aos obtidos em kg/dia, portanto também não foram verificadas diferenças no consumo desses nutrientes quando o peso dos animais foi considerado. O consumo de FSDN foi superior nos tratamentos P10 e P15 em comparação aos tratamentos M10 e M15 enquanto que o consumo de amido foi superior no tratamento controle e maior nos tratamentos M10 e M15 em comparação aos tratamentos P10 e P15. Esses

resultados foram verificados tanto para o consumo em kg/dia quanto para os consumos em %PV e $g/kg PV^{0,75}$ (Tabela 3).

Tabela 3 - Consumo de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) fibra solúvel em detergente neutro (FSDN) e amido de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica associados à glicerina

Consumo	Diets					EPM	Contrastes				
	CON	M10	M15	P10	P15		1	2	3	4	
	kg/dia										
MS	11,2	11,6	10,3	10,4	9,8	0,28	ns	ns	ns	ns	
MO	10,6	10,9	9,7	9,6	9,2	0,57	ns	ns	ns	ns	
FDN	3,4	3,8	3,7	3,5	3,5	0,11	ns	ns	ns	ns	
FDA	2,8	2,9	2,9	2,8	2,7	0,10	ns	ns	ns	ns	
PB	1,5	1,7	1,7	1,6	1,6	0,12	ns	ns	ns	ns	
EE	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,01	ns	ns	ns	ns	
FSDN	1,0	0,6	0,5	2,2	1,9	0,22	ns	ns	ns	*	
Amido	4,5	4,5	3,8	3,2	3,0	0,21	*	ns	ns	*	
	%PV/dia										
MS	2,5	2,5	2,3	2,3	2,1	0,06	ns	ns	ns	ns	
MO	2,3	2,3	2,2	2,1	1,8	0,06	ns	ns	ns	ns	
FDN	0,7	0,8	0,8	0,8	0,7	0,02	ns	ns	ns	ns	
FDA	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,01	ns	ns	ns	ns	
PB	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4	0,01	ns	ns	ns	ns	
EE	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,001	ns	ns	ns	ns	
FSDN	0,2	0,1	0,1	0,5	0,5	0,03	ns	ns	ns	*	
Amido	1,0	1,0	0,9	0,7	0,6	0,03	*	ns	ns	*	
	$g/kgPV^{0,75}$										
MS	114,6	115,1	106,3	106,1	98,6	2,91	ns	ns	ns	ns	
MO	108,0	108,4	100,5	98,6	81,3	2,72	ns	ns	ns	ns	
FDN	34,4	37,8	38,2	36,0	34,1	0,97	ns	ns	ns	ns	
FDA	28,2	28,3	29,6	28,2	28,0	0,73	ns	ns	ns	ns	
PB	14,9	17,3	17,8	16,4	18,9	0,44	ns	ns	ns	ns	
EE	3,1	3,3	2,8	2,9	3,1	0,08	ns	ns	ns	ns	
FSDN	10,7	5,7	5,6	22,6	22,1	1,40	ns	ns	ns	*	
Amido	46,1	44,6	39,0	32,3	28,8	1,49	*	ns	ns	*	

CON= ração sem adição de glicerina; M10= milho e 10% de glicerina; M15= milho e 15% de glicerina; P10= polpa cítrica e 10% de glicerina; P15= polpa cítrica e 15% de glicerina. Contrastes: 1 = CON vs tratamentos com glicerina, 2 = M10 vs M15, 3 = P10 vs P15, 4 = milho (M10 e M15) vs polpa (P10 e P15), EPM = erro padrão da média, ns = não significativo, *significativo a 0,05

A associação da glicerina com milho ou polpa cítrica nas dietas não interferiu no peso final (505,2 kg), ganho em peso médio diário (1,51 kg/dia), eficiência alimentar (0,14) e conversão alimentar (7,29), indicando que o aproveitamento das dietas foi semelhante, confirmando o potencial energético da glicerina e possibilitando a utilização desse ingrediente associado à polpa cítrica ($P>0,05$; Tabela 4).

Tabela 4 - Desempenho de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica associados à glicerina

Item	Dietas					EPM	Contrastes			
	CON	M10	M15	P10	P15		1	2	3	4
PV inicial, kg	396,3	411,5	397,0	398,2	406,8		-	-	-	-
PV final, kg	509,5	532,8	493,7	494,3	495,5	10,57	ns	ns	ns	ns
GMD, kg/dia	1,66	1,78	1,42	1,41	1,30	0,08	ns	ns	ns	ns
CA, kg/kg	6,88	6,65	7,67	7,63	7,62	0,21	ns	ns	ns	ns
EA, kg/kg	0,15	0,15	0,14	0,13	0,13	0,004	ns	ns	ns	ns

PV= peso vivo, GMD = Ganho médio diário, CA = Conversão alimentar (kg MS ingerida/kg ganho), EA = Eficiência alimentar (kg ganho/kg MS ingerida), CON= ração sem adição de glicerina; M10= milho e 10% de glicerina; M15= milho e 15% de glicerina; P10= polpa cítrica e 10% de glicerina; P15= polpa cítrica e 15% de glicerina. Contrastes: 1 = CON vs tratamentos com glicerina, 2 = M10 vs M15, 3 = P10 vs P15, 4 = milho (M10 e M15) vs polpa (P10 e P15), EPM = erro padrão da média, ns = não significativo

Características quantitativas da carcaça e qualitativas da carne

As características da carcaça (Tabela 5) não foram influenciadas pelos tratamentos ($P>0,05$). Foram obtidos em média 281,3 e 277,4 kg para os pesos de carcaça quente e fria, respectivamente, obtendo-se em média 1,38% de perda por resfriamento. Os baixos valores de perda por resfriamento indicam que as carcaças, além de apresentarem adequada cobertura de gordura, também foram manejadas e armazenadas de forma adequada na câmara fria. As médias obtidas para RCQ, pH, EGC e AOL foram respectivamente 55,7%; 5,35; 6,89 mm e 65,9 cm².

Tabela 5 – Características da carcaça de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica associados à glicerina

Item	Dietas					EPM	Contrastes			
	CON	M10	M15	P10	P15		1	2	3	4
PCC, kg	287,2	293,2	270,5	277,0	278,4	6,02	ns	ns	ns	ns
PCF, kg	283,4	288,9	266,7	273,2	274,6	5,90	ns	ns	ns	ns
PR, %	1,30	1,46	1,42	1,37	1,36	0,05	ns	ns	ns	ns
RCQ %	56,4	55,2	54,9	55,9	56,2	0,36	ns	ns	ns	ns
pH da carcaça	5,36	5,33	5,39	5,33	5,36	0,02	ns	ns	ns	ns
EGC, mm	6,99	6,84	6,87	7,03	6,76	0,12	ns	ns	ns	ns
AOL cm ²	65,2	66,5	64,7	65,7	67,7	3,32	ns	ns	ns	ns

PCC= peso da carcaça quente, PCF= peso da carcaça fria, PR= perda por resfriamento, RCQ= rendimento da carcaça quente, EGC= espessura de gordura de cobertura, AOL= área de olho de lombo, CON= ração sem adição de glicerina; M10= milho e 10% de glicerina; M15= milho e 15% de glicerina; P10= polpa cítrica e 10% de glicerina; P15= polpa cítrica e 15% de glicerina. Contrastes: 1 = CON vs tratamentos com glicerina, 2 = M10 vs M15, 3 = P10 vs P15, 4 = milho (M10 e M15) vs polpa (P10 e P15), EPM = erro padrão da média, ns = não significativo

Os teores de colesterol, capacidade de retenção de água e força de cisalhamento não foram influenciados pelos tratamentos e apresentaram os respectivos valores médios 34,3 mg/100g, 69,3% e 4,7 kgf/cm² (Tabela 6; P>0,05). A intensidade da cor amarela da carne foi reduzida nos tratamentos que continham glicerina em relação ao tratamento controle (P<0,05) contudo, a cor da gordura não foi alterada pelos tratamentos. Todavia, os valores obtidos são condizentes com a literatura e indicam que a carne possuía boa qualidade.

Tabela 6 – Características da carne e da gordura de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica associados à glicerina

Item	Dietas					EPM	Contrastes			
	CON	M10	M15	P10	P15		1	2	3	4
L* _{carne}	38,1	35,1	32,2	38,0	34,9	0,97	ns	ns	ns	ns
a* _{carne}	19,5	19,3	15,9	15,7	15,4	0,78	ns	ns	ns	ns
b* _{carne}	11,4	9,9	8,8	8,0	8,7	0,58	*	ns	ns	ns
L* _{gordura}	61,5	59,4	59,8	59,9	62,3	1,21	ns	ns	ns	ns
a* _{gordura}	7,8	6,7	8,8	7,8	6,8	0,76	ns	ns	ns	ns
b* _{gordura}	11,1	12,1	12,2	10,1	9,7	0,95	ns	ns	ns	ns
CRA %	69,9	70,9	69,6	68,8	67,3	0,48	ns	ns	ns	ns
PC %	35,4	36,9	38,2	38,1	34,0	1,38	ns	ns	ns	ns
FC (kgf/cm ²)	5,0	5,1	4,1	5,0	4,4	0,19	ns	ns	ns	ns
Colesterol	37,3	35,4	32,4	35,0	31,2	1,25	ns	ns	ns	ns

L*= luminosidade, a*= intensidade da cor vermelha, b*= intensidade da cor amarela, CRA= capacidade de retenção de água, PC= perda por cocção, FC= força de cisalhamento, CON= ração sem adição de glicerina; M10= milho e 10% de glicerina; M15= milho e 15% de glicerina; P10= polpa cítrica e 10% de glicerina; P15= polpa cítrica e 15% de glicerina. Contrastes: 1 = CON vs tratamentos com glicerina, 2 = M10 vs M15, 3 = P10 vs P15, 4 = milho (M10 e M15) vs polpa (P10 e P15), EPM = erro padrão da média, ns = não significativo, *= (P<0,05)

A composição dos ácidos graxos da gordura intramuscular de bovinos tem recebido atenção devido às implicações na saúde humana e nas características de qualidade da carne. A inclusão de glicerina nas dietas promoveu acréscimo dos ácidos graxos pentadecanóico e heptadecenóico (P<0,05; Tabela 7).

As maiores concentrações de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados foram respectivamente: palmítico (26,2%), oleico (41,6%) e linoleico (3,1%). É importante salientar que mesmo havendo alterações no perfil de ácidos graxos essas modificações não foram suficientes para alterar as quantidades totais de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados nem as relações entre saturados e insaturados (P>0,05; Tabela 8).

Tabela 7 – Composição porcentual dos ácidos graxos do músculo *Longissimus* de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica associados à glicerina

Item (%)	Dietas					EPM	Contrastes			
	CON	M10	M15	P10	P15		1	2	3	4
Saturados	%									
C10:0 (Cáprico)	0,06	0,05	0,06	0,06	0,06	0,003	ns	ns	ns	ns
C12:0 (Láurico)	0,07	0,06	0,08	0,08	0,07	0,005	ns	ns	ns	ns
C14:0 (Mirístico)	2,97	2,69	3,33	3,44	2,92	0,169	ns	ns	ns	ns
C15:0 (Pentadecanóico)	0,41	0,51	0,62	0,66	0,61	0,036	*	ns	ns	ns
C16:0 (Palmítico)	25,29	26,60	26,40	26,60	26,07	0,621	ns	ns	ns	ns
C17:0 (Heptadecanóico)	1,10	1,38	1,39	1,51	1,60	0,092	ns	ns	ns	ns
C18:0 (Estearico)	15,17	13,02	14,74	14,22	13,99	0,340	ns	ns	ns	ns
C20:0 (Araquídico)	0,12	0,10	0,13	0,11	0,11	0,005	ns	ns	ns	ns
Monoinsaturados										
C14:1 (Miristoleico)	0,67	0,76	0,74	0,96	0,70	0,071	ns	ns	ns	ns
C16:1 (Palmitoleico)	3,01	3,13	3,23	3,48	3,36	0,149	ns	ns	ns	ns
C17:1 (Heptadecenóico)	0,93	1,22	1,39	1,29	1,46	0,074	*	ns	ns	ns
C18:1n9c (Oleico)	41,35	43,71	40,25	40,69	42,06	0,715	ns	ns	ns	ns
C18:1n7 (Cis-vacênico)	3,20	2,78	3,20	2,90	2,74	0,156	ns	ns	ns	ns
C20:1n9 (Eicosenoico)	0,26	0,28	0,23	0,22	0,26	0,017	ns	ns	ns	ns
C24:1n9 (Nervônico)	0,11	0,12	0,05	0,09	0,07	0,019	ns	ns	ns	ns
Poliinsaturados										
C18:2n6c (Linoleico)	3,84	3,27	3,13	2,44	2,71	0,254	ns	ns	ns	ns
C18:3n6 (γ Linolenico)	0,08	0,08	0,09	0,09	0,08	0,003	ns	ns	ns	ns
C18:3n3 (α Linolenico)	0,22	0,22	0,20	0,23	0,23	0,010	ns	ns	ns	ns
C18:2c9,t11 (CLA)	0,58	0,49	0,59	0,51	0,52	0,034	ns	ns	ns	ns
C20:2 (Eicosadienoico)	0,07	0,06	0,06	0,04	0,05	0,004	ns	ns	ns	ns
C20:3n6 (Eicosatrienoico)	0,14	0,13	0,10	0,09	0,08	0,015	ns	ns	ns	ns
C20:4n6 (Araquidônico)	0,29	0,28	0,19	0,22	0,19	0,040	ns	ns	ns	ns
C20:5n3 (Eicosapentaenoico)	0,03	0,07	0,02	0,09	0,06	0,010	ns	ns	ns	ns
C22:4n6 (Docosatetraenoico)	0,04	0,04	0,02	0,03	0,03	0,004	ns	ns	ns	ns

CON= ração sem adição de glicerina; M10= milho e 10% de glicerina; M15= milho e 15% de glicerina; P10= polpa cítrica e 10% de glicerina; P15= polpa cítrica e 15% de glicerina. Contrastes: 1 = CON vs tratamentos com glicerina, 2 = M10 vs M15, 3 = P10 vs P15, 4 = milho (M10 e M15) vs polpa (P10 e P15), EPM = erro padrão da média, ns = não significativo, *= (P<0,05)

Tabela 8 – Quantidades percentuais de ácido graxos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados e relações entre insaturados e saturados do músculo *Longissimus* de bovinos alimentados com milho e polpa cítrica associados à glicerina

Item (%)	Dietas					EPM	Contrastes			
	CON	M10	M15	P10	P15		1	2	3	4
Saturados totais	45,2	43,4	46,7	46,7	45,4	0,77	ns	ns	ns	ns
Monoinsaturados totais	49,5	52,0	48,9	49,6	50,6	0,70	ns	ns	ns	ns
Poliinsaturados totais	5,29	4,58	4,39	3,68	3,92	0,306	ns	ns	ns	ns
Insaturado:saturado	1,21	1,30	1,14	1,14	1,20	0,043	ns	ns	ns	ns
Monoinsaturado:saturado	1,01	1,20	1,05	1,06	1,11	0,034	ns	ns	ns	ns
Poliinsaturado:saturado	0,12	0,10	0,09	0,08	0,09	0,009	ns	ns	ns	ns

CON= ração sem adição de glicerina; M10= milho e 10% de glicerina; M15= milho e 15% de glicerina; P10= polpa cítrica e 10% de glicerina; P15= polpa cítrica e 15% de glicerina. Contrastes: 1 = CON vs tratamentos com glicerina, 2 = M10 vs M15, 3 = P10 vs P15, 4 = milho (M10 e M15) vs polpa (P10 e P15), EPM = erro padrão da média, ns = não significativo, * = (P<0,05)

Parâmetros sanguíneos

As concentrações sanguíneas de glicose e colesterol, indicadores do metabolismo energético do animal, não foram influenciados pelos tratamentos (P>0,05), respectivamente 83,3 e 114,6 mg/dL, em média (Tabela 9).

Tabela 9 - Parâmetros sanguíneos de bovinos alimentados com glicerina associada ao milho e polpa cítrica

Item	Dietas					EPM	Contrastes			
	CON	M10	M15	P10	P15		1	2	3	4
Glicose (mg/dL)	82,6	80,3	84,8	81,3	87,5	3,51	ns	ns	ns	ns
Triglicerídeos	13,5	11,3	18,0	16,0	17,1	0,72	ns	*	ns	ns
Colesterol (mg/dL)	120,7	120,2	114,9	99,3	105,7	4,55	ns	ns	ns	ns
Ureia (mg/dL)	21,5	24,6	21,8	21,5	24,0	0,70	ns	ns	ns	ns
Creatinina (mg/dL)	2,0	2,0	1,9	1,9	2,2	0,04	ns	ns	ns	ns
Proteínas totais	7,6	7,8	7,4	7,8	7,6	0,09	ns	ns	ns	ns
Enzimas (UI/L)										
Fosfatase alcalina	128,6	120,1	158,3	133,2	110,1	6,95	ns	ns	ns	ns
AST	78,6	74,6	71,1	71,6	77,0	2,23	ns	ns	ns	ns
GGT	24,9	26,1	25,5	25,5	28,3	0,75	ns	ns	ns	ns

AST= aspartato aminotransferase, GGT= gama glutamiltransferase, CON – controle sem adição de glicerina; M10 – 30% de milho grão e 10% de glicerina; M15 – 25% de milho grão e 15% de glicerina; P10 – 25% de polpa cítrica e 10% de glicerina; P15 – 20% de polpa cítrica e 15% de glicerina. ¹Contrastes: 1 = tratamento controle vs tratamentos com glicerina (M10, M15, P10 e P15), 2 = M10 vs M15, 3 = P10 vs P15, 4 = milho (M10 e M15) vs polpa cítrica (P10 e P15), EPM= erro padrão da média, * = P<0,05, ns = não significativo.

Houve efeito ($P < 0,05$) para as concentrações de triglicerídeos entre os tratamentos M10 e M15, no qual o tratamento M15 apresentou valor superior, 18 mg/dL quando comparado ao tratamento M10 (11,3 mg/dL). Não foram verificados efeitos das dietas sobre as concentrações sanguíneas de ureia, creatinina e proteínas totais cujas médias foram, respectivamente, 22,7 mg/dL, 2,0 mg/dL e 7,6 g/dL. Em relação aos resultados da atividade enzimática (fosfatase alcalina, AST e GGT) não foram observadas diferenças entre os tratamentos ($P > 0,05$).

Comportamento ingestivo

Não foram observados efeitos sobre o comportamento ingestivo dos animais em função das dietas avaliadas ($P > 0,05$). Alguns parâmetros como ingestão de alimento, ócio deitado, ruminação em pé, tempo de mastigação por bolo ruminal e outras atividades apresentaram diferença numérica expressiva, mas provavelmente devido à alta variação entre os dados não houve efeitos significativos (Tabela 10).

Tabela 10 - Comportamento ingestivo de bovinos alimentados com glicerina associada ao milho e polpa cítrica

Item	Dietas					EPM	Contrastes				
	CON	M10	M15	P10	P15		1	2	3	4	
	Tempo (horas/dia)										
Ingestão de alimento	3,8	4,1	2,7	4,1	4,8	1,47	ns	ns	ns	ns	
Ingestão de água	0,3	0,6	0,6	0,4	0,5	0,34	ns	ns	ns	ns	
Ócio em pé	8,2	6,1	5,8	6,9	7,0	2,39	ns	ns	ns	ns	
Ócio deitado	7,4	6,9	9,2	7,8	7,2	2,73	ns	ns	ns	ns	
Ócio total	15,6	13,0	15,0	14,7	14,3	2,55	ns	ns	ns	ns	
Ruminação em pé	1,6	0,9	0,7	0,9	0,9	0,81	ns	ns	ns	ns	
Ruminação deitado	1,7	2,4	2,6	2,3	2,3	1,23	ns	ns	ns	ns	
Ruminação total	3,2	3,3	3,3	3,2	3,2	1,04	ns	ns	ns	ns	
Outras atividades	1,2	2,9	2,5	1,6	1,3	1,67	ns	ns	ns	ns	
TMB (s/bolo)	54,2	53,3	58,8	64,5	58,0	1,77	ns	ns	ns	ns	
NMB (n ^o /bolo)	50,8	49,3	53,8	59,0	54,2	1,55	ns	ns	ns	ns	

CON – controle sem adição de glicerina; M10 – milho e 10% de glicerina; M15 – milho e 15% de glicerina; P10 – polpa cítrica e 10% de glicerina; P15 – 20% de polpa cítrica e 15% de glicerina. Contrastes: 1 = tratamento controle vs tratamentos com glicerina (M10, M15, P10 e P15), 2 = M10 vs M15, 3 = P10 vs P15, 4 = milho (M10 e M15) vs polpa cítrica (P10 e P15), TMB= tempo despendido na mastigação merícica por bolo ruminal, NMB= número de mastigações merícicas por bolo ruminal, EPM= erro padrão da média, ns = não significativo.

DISCUSSÃO

Consumo e desempenho em confinamento

Nesse estudo a inclusão de 10 ou 15% de glicerina não resultou em queda na ingestão de matéria seca tanto nas dietas com maior proporção de milho quanto nas dietas com maior proporção de polpa cítrica tendo como média 10,62 kg/dia. Esse resultado está em desacordo com o encontrado por Pyatt, Doane & Cecava (2007) que relataram diminuição de até 10,1% na ingestão de matéria seca quando a glicerina foi adicionada em concentração de 10% na dieta de bovinos e Parsons, Shelor & Drouillard (2009), os quais observaram diminuição no consumo de matéria seca em novilhas de corte em terminação recebendo até 16% de glicerina bruta na matéria seca da dieta. É importante ressaltar que nesses trabalhos, mesmo havendo redução no consumo, o desempenho não foi afetado indicando que ocorre aumento na eficiência alimentar das dietas com alta inclusão de glicerina.

As diferenças encontradas em relação aos resultados de consumo de matéria seca entre os trabalhos podem ser causadas tanto pela composição da glicerina que varia de acordo com o método de obtenção, quanto por efeitos intrínsecos do glicerol no metabolismo ruminal e do animal. Substâncias como sais e metanol, que são utilizados no processo de transesterificação, podem influenciar a palatabilidade da glicerina obtida (CHUNG et al., 2007). Além disso, a pureza da glicerina utilizada também pode influenciar a aceitabilidade pelos animais.

Ao utilizar glicerina semelhante à utilizada nesse estudo (obtida a partir do grão de soja com 85,7% de glicerol, 8,6% de água, 5,5% de sais e 0,09% de metanol) Mach, Bach & Devant (2009) não encontraram diferença no consumo de matéria seca de novilhos leiteiros confinados recebendo glicerina em dietas com alto concentrado com inclusões de 0, 4, 8 e 12% de glicerina na matéria seca da dieta indicando que esta pode ser utilizada como fonte energética na ração.

Neste ensaio, a utilização de polpa cítrica também não influenciou o consumo de MS, corroborando com Prado et al. (2000) que avaliaram quatro níveis de substituição do milho (40, 60, 80 e 100%) pela polpa de citrus peletizada na dieta de

bovinos mestiços confinados sobre o consumo de MS, PB, EB e FDN e não observaram alteração no consumo desses nutrientes com o aumento da concentração de polpa cítrica da dieta.

As diferenças observadas nos consumos de FSDN e de amido baseiam-se no fato de que as dietas foram formuladas para conferir proporções elevadas de FSDN ou amido. Dessa maneira, os animais das dietas com maior concentração de polpa cítrica consumiram mais FSDN do que aqueles das dietas com maior concentração de milho. Da mesma forma o consumo de amido foi maior nos tratamentos M10 e M15 quando comparados aos tratamentos P10 e P15. No tratamento controle os animais consumiram maior quantidade de amido, pois os tratamentos com polpa cítrica a concentração de milho, principal fonte de amido da dieta foi de apenas 12,5% e nos tratamentos M10 e M15 a glicerina, que não possui amido em sua composição, foi incluída em substituição ao milho promovendo a redução da concentração do amido nesses tratamentos.

O resultado do presente estudo indica que a inclusão da glicerina, em até 15% na matéria seca da dieta, e sua associação com milho ou polpa cítrica, não promoveu alterações desfavoráveis evitando a queda no consumo de matéria seca. Esse fato pode estar relacionado à capacidade dos microrganismos ruminais se adaptarem ao fornecimento de glicerol, já que quanto maior o tempo de fornecimento, maior a taxa de desaparecimento do glicerol (KREHBIEL, 2008).

Com relação aos dados de desempenho de trabalhos recentes, a maioria dos resultados sugerem que há um aumento no GMD e eficiência alimentar quando os bovinos confinados são alimentados com até 10% glicerina na MS (PYATT, DOANE & CECAVA, 2007; PARSONS, SHELOR & DROUILLARD, 2009; POORE et al., 2010; RAMOS & KERLEY, 2011). Outros trabalhos reportaram não haver influência da glicerina sobre o ganho e eficiência alimentar (ELAM et al., 2008; MACH, BACH & DEVANT, 2009; HALES et al., 2013). Esses resultados corroboram com os obtidos no presente estudo no qual a inclusão de 15% de glicerina independente da fonte de carboidrato utilizada não influenciou negativamente o desempenho animal. Dessa forma as dietas com polpa cítrica e glicerina podem ser utilizadas de forma estratégica visando a redução dos custos com a alimentação, desde que observadas

as possíveis alterações no custo e disponibilidade desses subprodutos ao longo do ano.

Características quantitativas da carcaça e qualitativas da carne

Assim como os resultados de desempenho não foram alterados pelas dietas, as características da carcaça foram semelhantes entre os tratamentos. Em todos os tratamentos a espessura de gordura de cobertura (EGC) foi maior que 3 mm, que é o mínimo preconizado pelos frigoríficos para que não haja penalização das carcaças (LUCCHIARI FILHO, 2000). A gordura de cobertura da carcaça atua como isolante térmico, impedindo a perda de líquidos durante o resfriamento (MAGNABOSCO et al., 2009). Como os valores de EGC não foram significativos, pode-se inferir que a semelhança nas perdas por resfriamento decorreu do grau de acabamento uniforme entre os tratamentos no momento do abate.

Segundo Jorge et al. (2008), o rendimento de carcaça quente pode apresentar variação de acordo com o padrão racial dos animais utilizados, volume ruminal, tempo de jejum, transporte e grau de rigidez do processo de limpeza das carcaças. Os valores para o rendimento de carcaça quente de bovinos variam entre 53 e 56%. Assim os valores encontrados neste experimento, 55,7% em média, estão adequados para as características de rendimento da carcaça quente de bovinos Nelore. Da mesma maneira, as médias de pH final obtidas foram inferiores a 5,8 que, conforme Gregory (1998), seria o valor limite para a ocorrência de carnes tipo DFD (*dark, firm and dry*) sendo assim o produto final considerado adequado para manutenção da vida de prateleira (MACH et al., 2008). A força de cisalhamento foi em média 4,7 kgf/cm² e segundo Lawrie (2004) valores abaixo de 5,00 kgf/cm² caracterizam a carne como macia.

Estudos realizados com glicerina na alimentação de bovinos confinados não apontaram efeito sobre as características da carcaça dos animais que a ingeriram. Mach, Bach & Devant (2009) alimentaram bovinos machos, da raça Holandesa, com até 12% de glicerina na matéria seca do concentrado e não encontraram nenhum efeito dessa ação sobre as características de carcaça e qualidade de carne. O mesmo foi evidenciado por D'aurea (2010) quando incluiu até 20% de glicerina na

dieta de novilhas da raça Nelore e por Van Cleef (2012) ao utilizar até 30% de glicerina na alimentação de bovinos não castrados da raça Nelore.

Com relação à cor da carne, Muchenje et al. (2009) descreveram que, em bovinos, os valores de luminosidade variam entre 33,2-41,0, a cor vermelha entre 11,1-23,6 e a cor amarela, entre 6,1-11,3. Em bovinos jovens, Abularach, Rocha & Felício (1998) classificaram carnes escuras quando $L^* < 29,68$ e carnes claras quando $L^* > 38,51$; em relação à intensidade de vermelho, consideraram $a^* < 14,83$ como baixa e $a^* > 29,27$ como alta; e, para a intensidade de amarelo, $b^* < 3,40$ como baixa e $b^* > 8,28$ como alta. Considerando que a cor da carne é o primeiro critério utilizado pelo consumidor no momento da compra, neste trabalho, as médias de L^* , a^* e b^* mantiveram-se dentro dos valores descritos por Muchenje et al. (2009) e L^* e a^* entre os limites de cor considerados normais para carne bovina, o tratamento controle apresentou valor de b^* elevado (11,38) e a redução verificada nos tratamentos com glicerina proporcionou valores de b^* mais próximos a 8,28 considerado limite para normalidade desse parâmetro conforme Abularach, Rocha & Felício (1998).

A intensidade de amarelo na carne é indicativa da quantidade de gordura presente no músculo do animal. Considerando que diferenças nos produtos da fermentação ruminal proporcionam diferentes quantidades de nutrientes metabolizáveis, sendo os glicogênicos originados principalmente do propionato e os lipogênicos originados do acetato (HALL, 2000) e que a glicerina promove redução na concentração de acetato como observado no Capítulo 2 da presente tese e por outros autores como Avila-Stagno et al., 2011 e Carvalho et al., 2011, pode-se inferir que a redução na intensidade de amarelo da carne nos tratamentos com glicerina é devida a redução na concentração de acetato e conseqüentemente na síntese de gordura intramuscular.

A intensidade de amarelo da gordura foi em média 11,06, valores acima dos encontrados Fernandes et al. (2008) que observaram valores de b^* de 7,49 para tourinhos da raça Canchim. A coloração amarelada da gordura normalmente está associada a um animal produzido a pasto, enquanto a gordura menos pigmentada (branca) está relacionada a animais acabados em confinamento, em que normalmente a fração volumosa da dieta é pobre em pigmentos carotenoides.

O valor médio de colesterol encontrado no músculo foi de 34,3 mg/100g de carne, valor abaixo do observado por Lawrie (2004) que reportou que a carne bovina possui em média o teor de colesterol de 59 mg/100g. Concordando com o resultado desse ensaio D'aurea (2010) não observou influencia da concentração de glicerina na dieta de novilhas da raça Nelore confinadas e também obteve valores de colesterol abaixo de 59 mg/100g. Sampaio et al. (2008) avaliaram a composição química e o teor de colesterol da carne de tourinhos das raças Nelore e Canchim e também observaram baixos teores de colesterol na carne (38,59 e 33,11 mg/100g para grupos genéticos Nelore e Canchim, respectivamente). Considerando que o consumo de carne bovina vem sendo associado com o aumento do índice de colesterol, um fator de risco que colabora para o surgimento de doenças coronarianas, a obtenção de baixos valores de colesterol na carne contribuem para uma alimentação mais saudável.

Ácidos graxos de cadeia ímpar, como o ácido pentadecanóico (C15:0) e ácido heptadecanóico (C17:1) são sintetizados pelas bactérias ruminais com a utilização principalmente de propionato e valerato e estão presentes nos lipídios microbianos (MANSBRIDGE & BLAKE, 1997). Diversos trabalhos demonstram que no rúmen a glicerina é fermentada principalmente a propionato (LEE et al., 2011; RAMOS & KERLEY 2011) portanto o aumento da concentração desses ácidos pode estar relacionado ao incremento na produção de propionato oriundo da fermentação da glicerina. Contudo, o aumento da concentração desses ácidos na carne dos animais que receberam glicerina são irrelevantes, pois representam menos de 2% do total de ácidos graxos contidos na carne e aparentemente não apresentam função determinante para a saúde humana.

De acordo com Enser et al. (1998), o Departamento de Saúde Britânico considera valor mínimo para uma dieta saudável a relação de 0,45 entre ácidos graxos poliinsaturados e ácidos graxos saturados. A relação média obtida nesse trabalho (0,10) foi inferior ao recomendado pelo departamento, porém está próxima às encontradas por Fernandes et al., (2009) e Metz et al., (2009) para bovinos confinados em condições brasileiras.

Parâmetros sanguíneos

Os valores obtidos para concentrações de colesterol (em média 112,2 mg/dL) são considerados normais de acordo com a literatura, 80-120 mg/dL (KANEKO, HARVEY & BRUSS 2008). Gonzáles & Silva (2006), que afirmaram que os níveis de colesterol podem dar uma indicação indireta da atividade tireoideana, já que os estrógenos, formados a partir do colesterol, afetam a relação das funções hipofisária, tireoideana e adrenal. Portanto, como não houve modificações nas concentrações de colesterol sérico, pode-se concluir que não houve alterações tireoidianas suficientes para serem detectadas.

Contudo as concentrações de glicose foram mais elevadas do que as sugeridas pela literatura (45-75 mg/dL). Os valores mais elevados também podem ser atribuídos à alta ingestão de energia durante o período experimental, em que os animais foram alimentados com dietas com alto teor de concentrado (70%), o que pode ter aumentado a concentração de propionato no rúmen e no fígado, estimulando a gliconeogênese, contribuindo para a elevação da concentração de glicose plasmática em bovinos.

O aumento nas concentrações séricas de triglicerídeos pode levar à ocorrência de lipidose hepática. A ocorrência desse tipo de patologia é mais evidente em animais que receberam alto nível de concentrado na dieta (acima de 70%) por longos períodos pois propicia aumento da produção energética devido às alterações na fermentação ruminal e, conseqüentemente, maior produção de ácidos graxos o que não foi o caso deste estudo.

Usualmente, os valores de ureia e creatinina são indicados para a avaliação da função renal dos animais domésticos. O valor de creatinina está na faixa normal sugerida na literatura por Kaneko, Harvey & Bruss (2008) que é de 1,0 a 2,0 mg/dL. A creatinina é excretada pelos rins através de filtração glomerular, portanto, pode indicar a insuficiência renal, o que não foi observado no presente estudo. A concentração de proteínas totais ficou um pouco acima do sugerido pela literatura que é de 6,74-7,46 g/dL (KANEKO, HARVEY & BRUSS 2008). A concentração de ureia sanguínea tem sido empregada nos perfis metabólicos como um indicador do metabolismo proteico e, os valores obtidos neste estudo estão dentro da faixa

considerada ideal, que varia de 17 a 45 mg/dL, de acordo com González & Silva (2006).

Os valores obtidos para fosfatase alcalina nesse trabalho estão dentro do limite aceitável que para bovinos situa-se entre 0 e 488 UI/L (KANEKO, HARVEY & BRUSS, 2008). A atividade da fosfatase alcalina está relacionada a doenças hepáticas agudas e crônicas, porém, aumentos marcantes são indicativos de colestase o que não foi o caso do estudo.

A mensuração da atividade de AST é utilizada rotineiramente na enzimologia clínica em animais de produção como um teste de injúria tanto hepática quanto muscular e, em ruminantes é um bom indicador do funcionamento hepático. Quando as células desses órgãos são lesionadas, ocorre extravasamento dessa enzima, o que reflete em aumento da sua concentração sérica (THRALL, 2007). A enzima GGT também é indicadora do funcionamento hepático, o aumento na sua concentração é indicativo de insuficiência hepática, colestases e proliferação de dutos biliares em todas as espécies (GONZÁLES & SILVA, 2006). Os valores padrão de normalidade em relação à concentração de AST e GGT para bovinos situam-se entre o intervalo de 78 a 132 UI/L e 6,1 a 17,4 UI/L, respectivamente (KANEKO, HARVEY & BRUSS, 2008). Os resultados demonstraram que as concentrações de GGT (em média 26,1 UI/L) ficaram acima do limite aceitável, indicando que o fígado estaria sendo lesado ou sobrecarregado. Contudo, uma vez que não houve efeito dos tratamentos sobre os resultados esses valores elevados provavelmente são em função da alta ingestão de concentrado (70% da dieta). O fornecimento de altas quantidades de concentrado implica em maior consumo de energia e alta ingestão de matéria orgânica fermentescível no rúmen o que resulta em maiores produções de ácidos graxos voláteis, principalmente propionato (SANTOS, 2006), que é metabolizado no fígado em sua maior parte, ocasionando portanto uma sobrecarga no metabolismo hepático.

Comportamento ingestivo

Quando a ingestão de glicerina é elevada, a ingestão de alimentos pode ser inibida por um período determinado, devido à quantidade de energia dada ao animal

através da rápida fermentação da glicerina até ácidos graxos de cadeia curta no rúmen (TRABUE et al., 2007). Entre os tratamentos com glicerina a diferença de concentração foi de apenas 5% o que pode ter contribuído para ausência de efeito entre os parâmetros avaliados. Barroso et al. (2010), ao avaliarem o comportamento ingestivo de novilhas suplementadas em pastagem com níveis crescentes de glicerina bruta na dieta (0; 3,33; 6,66 e 9,99% na matéria seca total em substituição ao milho), verificaram que o tempo de permanência no cocho apresentou efeito linear decrescente ($P < 0,01$) com o aumento da inclusão de glicerina. Os autores explicaram que possivelmente tal fato ocorreu devido à glicerina ser viscosa e quando misturada à ração facilita a apreensão e a deglutição do suplemento, quando adicionada em maiores concentrações. Farias et al. (2012), avaliaram a inclusão de glicerina sobre o comportamento ingestivo de novilhas, em concentrações de 0; 2,8; 6,1 e 9,1% de glicerina na MS ingerida e observaram que a inclusão de glicerina determinou redução linear no tempo de pastejo, aumento linear no tempo de ócio e efeito quadrático no tempo de cocho. Van Cleef (2012) constatou que a inclusão de até 30% de glicerina na dieta de bovinos da raça Nelore em terminação aumenta a eficiência de alimentação, facilita a ingestão dos alimentos e diminui o tempo da alimentação, não deprimindo o consumo de matéria seca. A maioria das pesquisas indica que a glicerina age sobre o comportamento ingestivo devido à modificação física da dieta promovida pela glicerina, fazendo com que a dieta fique mais úmida e agregada. Esses resultados discordam dos obtidos nessa pesquisa. Apesar da grande diferença numérica observada nos parâmetros de comportamento ingestivo, não foi possível comprovar estatisticamente modificações causadas pela inclusão de glicerina. Possivelmente isso ocorreu devido à grande variação que houve entre os dados (Tabela 7) e ao baixo número de repetições utilizadas (seis por tratamento).

Em sistemas de confinamento de bovinos, a alimentação é fator primordial para o sucesso do empreendimento sendo este fator o que mais onera o custo de produção (MIOTTO et al., 2009). Restle et al. (2007) observaram que o custo com alimentação (volumoso mais concentrado) foi o componente mais representativo (média de 77,2%) na produção de bovinos de corte em confinamentos,

desconsiderado o custo de compra do animal. Assim, a busca por maior lucratividade deve focar principalmente a redução no custo com alimentação.

Nesta pesquisa a utilização de polpa cítrica e glicerina visaram a redução do custo das dietas. Considerando que o consumo, o desempenho e a qualidade da carcaça e da carne foram semelhantes e que os valores obtidos estão corroboraram com aqueles citados na literatura a utilização desses subprodutos torna-se uma alternativa economicamente viável, desde que apresentem disponibilidade na região em que se pretende utilizá-los. Em outubro de 2013 foi realizado um levantamento de preços por quilo dos ingredientes utilizados nas dietas no estado do São Paulo, foram obtidos para silagem de milho (R\$ 0,10/kg), milho grão (R\$ 0,59/kg), polpa cítrica peletizada (R\$ 0,52/kg), glicerina (R\$ 0,25/kg), casca de soja (R\$ 0,65/kg) e para os demais ingredientes (R\$ 4,98/kg). Em seguida, foi realizado o cálculo do custo de cada dieta sendo que a controle foi a mais onerosa R\$ 0,46/kg, já as dietas com 15% de glicerina foram as de menor custo R\$ 0,43 e R\$ 0,42 para os tratamentos M15 e P15 respectivamente.

A diferença por quilo das dietas, a primeira vista, não é tão expressiva, mas ao contabilizar o custo de todo o período de confinamento com os dados obtidos nesta pesquisa: consumo da dieta controle (11,2 kg MS/dia), consumo da dieta P15 (9,8 kg MS/dia) e 75 dias de período experimental, o custo de alimentação de cada animal foi de R\$ 386,40 e R\$ 308,70 para os tratamentos controle e P15 respectivamente. Dessa forma, nas condições deste experimento, ao utilizar o tratamento P15 a redução do custo com alimentação poderia chegar a R\$ 77,70 por animal.

CONCLUSÕES

A associação de até 15% de glicerina nas dietas contendo maiores concentrações de milho ou polpa cítrica é viável uma vez que não houve prejuízos ao consumo, desempenho, características da carcaça e da carne, parâmetros sanguíneos e nem alterações no comportamento ingestivo.

REFERÊNCIAS

ABULARACH, M.L.S.; ROCHA, C.E.; FELÍCIO, P.E. Características de qualidade do contrafilé (m. *L. dorsi*) de touros jovens da raça Nelore. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v.18, p.205-210, 1998.

AL-HASANAI, S.M.; HLAVAC, J.; CARPENTER, M.W. Rapid determination of cholesterol in single and multicomponent prepared foods. **Journal of the Association Official Analytical Chemistry International**, v.76, n.4, p.902-906, 1993.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURE CHEMISTS – A.O.A.C. **Official methods of the analysis**. 11^a ed. Washington, D.C., 1995

AVILA-STAGNO, J.; CHAVES, A.V.; HERNANDEZ-CALVA, M.; BEAUCHEMIN, K.A.; MCGINN, S.M.; WANG, Y.; HARSTAD, O.M.; McALLISTER, T.A. Effects of replacing barley grain in feedlot diets with increasing levels of glycerol on in vitro fermentation and methane production. **Animal Feed Science and Technology**, v.166-1667, p.265-268, 2011.

BAMPIDIS, V.A.; ROBINSON, P.H. Citrus by-products as ruminant feed: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v.128, n.3/4, p.175-217, 2006.

BARROSO, D.S.; ALMEIDA, V.V.S.; SILVA, R.R.; OLIVEIRA, A.C.; ABREU FILHO, G.; LISBOA, M.M. Níveis crescentes de glicerina bruta na dieta de novilhas suplementadas a pasto: comportamento ingestivo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47, 2010, Salvador. **Anais...** Salvador: SBZ, 2010. CD-ROM.

BEN-GHEDALIA, D.; YOSEF, E.; MIRON, J.; EST, Y. The effects of starch- and pectin- rich diets on quantitative aspects of digestion in sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v.24, p.289-298, 1989.

BLIGH, E.G. & DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, p.911-917, 1959.

BÜRGER, P.J.; PEREIRA, J.C.; QUEIROZ, A.C.; SILVA, J.F.C; VALADARES FILHO, S.C.; CECON, P.R.; CASALI, A.D.P. Comportamento ingestivo em bezerros holandeses alimentados com dietas contendo diferentes níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.1, p. 236-242, 2000.

CARVALHO, E.R.; SCHMELZ-ROBERTS , N.C.; WHITE, H.M.; DOANE, P.H.; DONKIN, S.S. Replacing corn with glycerol in diets for transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.94, n.2, p.908–916, 2011.

CHUNG, Y.H.; RICO, D.E.; MARTINEZ, C.M.; CASSIDY, T.W.; NOIROT, V.; AMES, A.; VARGA, G.A. Effect of feeding dry glycerin to early postpartum Holstein dairy cows on milk production and metabolic profiles. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.12, p.5682-5691, 2007.

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

D'AUREA, A.P. **Glicerina, resíduo da produção de biodiesel, na terminação de novilhas da raça nelore**. 2010. 47f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, 2010.

ELAM, N. A.; ENG, K. S.; BECHTEL, B.; HARRIS, J. M.; CROCKER, R. Glycerol from biodiesel production considerations for feedlot diets. In: SOUTHWEST NUTRITION AND MANAGEMENT CONFERENCE, 23, 2008, Arizona. **Proceedings...** Arizona: The University of Arizona, 2008.

ENSER, M.; HALLLET, K.G.; HEWETT, B. FURSEY, G.A.J.; WOOD, J.D.; HARRINGTON, G. Fatty acid content and composition of UK beef and lamb muscle in relation to production system and implications for human nutrition. **Meat Science**, v.49, n.3, p.329-341, 1998.

FARIAS, M.S.; SILVA, R.R.; ZAWADZKI, F.; EIRAS, C.E.; LIMA, B.S.; PRADO, I.N. Glycerin levels for crossbred heifers supplemented in pasture: intake behavior. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, Maringá, v. 34, n. 1, p. 63-69, 2012.

FERNANDES, A.R.M.; SAMPAIO, A.A.M.; HENRIQUE, W., TULLIO, R.R.; PERECIN, D. Características da carcaça e da carne de bovinos sob diferentes dietas, em confinamento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.1, p.139-147, 2008

FERNANDES, A.R.M.; SAMPAIO, A.A.M.; HENRIQUE, W.; TULLIO, R.R.; OLIVEIRA, E.E.; SILVA, T.M. Composição química e perfil de ácidos graxos da carne de bovinos de diferentes condições sexuais recebendo silagem de milho e concentrado ou cana-de-açúcar e concentrado contendo grãos de girassol. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.4, p.705-712, 2009

GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 357p, 2006.

GREGORY, N.G. **Animal welfare and meat science**. Cambridge: University Press, 1998. 289p.

HALES, K.E.; BONDURANT, R.G.; LUEBBE, M.K.; COLE, N.A.; MacDONALD, J. C. Effects of crude glycerin in steam-flaked corn-based diets fed to growing feedlot cattle **Journal of Animal Science**, Published Online First on May 8, 2013 as doi:10.2527/jas.2012-5944

HALL, M.B. Neutral detergent-soluble carbohydrates nutritional relevance and analysis. Bulletin 339. University of Florida. 2000.

HENDRIX, D.L. 1993. Rapid extraction and analysis of nonstructural carbohydrates in plant tissues. **Crop Science**, v.33, p.1306-1311.

HOOVER, W.H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal of Animal Science**, v.69, p.2755-2766, 1986.

JORGE, A.M.; FONTES, C.A.; PAULINO, M.F.; FERREIRA, J.N. Desempenho produtivo de animais de quarto raças zebuínas, abatidas em tres estadios de maturidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n.2, p. 350-357, 2008.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6.ed. San Diego: Academic, 2008. 916p.

KREHBIEL, C.R. Ruminant and physiological metabolism of glycerin. **Journal of Animal Science**, v.86, p.392, 2008.

LAWRIE, R.A. **Ciência da carne**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 384p.

LEE, S. Y.; LEE, S. M.; CHO, Y. B.; KAM, D. K.; LEE, S. C.; KIM, C. H.; SEO, S. Glycerol as a feed supplement for ruminants: in vitro fermentation characteristics and methane production. **Animal Feed Science and Technology**, v.166-167, p.269-274, 2011.

LEIVA, E.; HALL, M. B.; VAN HORN, H. H. Performance of dairy cattle fed citrus pulp or corn products as sources of neutral detergent-soluble carbohydrates. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 12, p. 2866-2875, 2000.

LOPES, L.S.; LADEIRA, M.M.; MACHADO NETO, O.R.; SILVEIRA, A.R.M.C.; REIS, R.P.; CAMPOS, F.R. Viabilidade econômica da terminação de novilhos nelore e Red norte em confinamento na região de Lavras-MG. **Ciência e agrotecnologia**, v. 35, n. 4, p. 774-780, 2011

LUCHIARI FILHO, A. **Pecuária da carne bovina**. São Paulo: R Vieira Gráfica e Editora, 2000. 134p.

MACH, N.; BACH, A.; DEVANT, M. Effects of crude glycerin supplementation on performance and meat quality of Holstein bulls fed high-concentration diets. **Journal of Animal Science**, v.87, p.632-638, 2009.

MACH, N.; BACH, A.; VELARDE, A.; DEVANT, M. Association between animal, transportation, slaughterhouse practices, and meat pH in beef. **Meat Science**, v.78, p.232-238, 2008.

MAGNABOSCO, C.U.; YOKOO, M.J; SAINZ, R.D. et al. Estratégias genéticas para melhoria da qualidade da carne bovina no Brasil. In: SIMPEC, 6.; SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE PECUÁRIA DE CORTE, 1, 2009, Lavras. **Anais....** Lavras, 2009. v.6, p.27-49.

MANSBRIDGE, R.J.; BLAKE, J.S. Nutritional factors affecting the fatty acid composition of bovine milk. **British Journal of Nutrition**, v.78, p. S37-S47, 1997.

METZ, P.A.M.; MENEZES, L.F.; SANTOS, A.P.; BRONDANI, I.L.; RESTLE, J.; LANNA, D.P.D. Perfil de ácidos graxos na carne de novilhos de diferentes idades e grupos genéticos terminados em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.3, p.523-531, 2009

MIOTTO, F.R.C; NEIVA, J.N.M; VOLTOLINI, T.V.; ROGÉRIO, M.C.P.; CASTRO, K.J. Desempenho produtivo de tourinhos Nelore x Limousin alimentados com dietas contendo gérmen de milho integral. **Revista Ciências Agronômicas**, v.40, n.4, p.624-632, 2009

MIRON, J.; YOSEF, E.; BEN-GHEDALIA, D.; CHASE, L. E.; BAUMAN, D. E.; SOLOMON, R. Digestibility by dairy cows of monosaccharide constituents in total mixed rations containing citrus pulp. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 1, p. 89-94. 2002.

MUCHENJE, V.; DZAMA, B.K.; CHIMONYO, M.; STRYDOM, P.E.; HUGO, A.; RAATS, J.G. Some biochemical aspects pertaining to beef eating quality and consumer health: a review. **Food Chemistry**, v.112, p.279-289, 2009.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 1996. 242p.

PARSONS, G.L.; SHELOR, M.K.; DROUILLARD, J.S. Performance and carcass traits of finishing heifers fed crude glycerin. **Journal of Animal Science**, v.87, p.653-657, 2009.

POLLI, V.A.; RESTLE, J. SENNA, D.B.; ALMEIDA, S.R.S. Aspectos relativos à ruminação de bovinos e bubalinos em regime de confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.25, n.5, p.987-993, 1996.

POORE, M.H. ; CASSADY, J.P.; ALLEY, M.A.; GRAY, K.A. Influence of sire breed and crude glycerin level in the growing diet on growth and carcass characteristics in steer calves. **Journal of Animal Science**, v.88, Suppl. 3, p.23, (Abstract 71), 2010.

PRADO, I.N. & MOREIRA, F.B. **Suplementação de Bovinos no Pasto e Alimentos Alternativos Usados na Bovinocultura**. Maringá – PR. EDUEM – UEM, 2002. 162p.

PRADO, I.N.; PINHEIRO, A.D.; ALCALDE, C.R.; ZEOULA, LM; NASCIMENTO, WG; SOUZA, NE. Níveis de substituição do milho pela polpa de citrus peletizada sobre o desempenho e características da carcaça de bovinos mestiços confinados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.6, 2135-2141, 2000.

PYATT, N.A.; DOANE, P.H.; CECAVA, M.J.; Effect of crude glycerin in finishing cattle diets. **Journal of Animal Science**, v.85, Suppl. 1, p.412 (Abstract 530), 2007

RAMOS, M.H. & KERLEY, M. S. Effect of dietary crude glycerol level on ruminal fermentation in continuous culture and growth performance of beef calves. **Journal of Animal Science**, October 28, 2011 jas.2011-4099; published ahead of print October 28, 2011, doi:10.2527/jas.2011-4099, 2011.

RESTLE, J.; PACHECO, P.S.; COSTA, E.C.; FREITAS, A.K.; VAZ, F.N.; BRONDANI, I.L.; FERNANDES, J.J.R. Apreciação econômica da terminação em confinamento de novilhos Red Angus superjovens abatidos com diferentes pesos. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 36, n. 04, p. 978-986, 2007.

RODRIGUES, G.H.; SUSIN, I.; PIRES, A.V.; MENDES, C.Q.; URANO, F.S.; CASTILLO, C.J.C. Polpa cítrica em rações para cordeiros em confinamento: características da carcaça e qualidade da carne. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 10, p. 1869-1875, 2008

SAMPAIO, A.A.M.; OLIVEIRA,E.A.; HENRIQUE,H.; FERNANDES,A.R.M.; LUCENAS, T.L.; ROSA, B.L. Composição química e teores de colesterol da carne do contrafilé de bovinos jovens terminados em confinamento. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43, 2008. Lavras, MG. **Anais...**, Lavras, MG:SBZ,2008..CR-ROM.

SCHALCH, F. J.; SCHALCH, E.; ZANETTI, M. A.; BRISOLA, M. L. Substituição do milho em grão moído pela polpa cítrica na desmama precoce de bezerros leiteiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 1, p. 280-285, 2001.

STROBEL, H.J.; RUSSEL, J.B. Effect on pH and energy spilling on bacterial protein syntesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. **Journal of Dairy Science**, v.69, p.2941-2947, 1986.

TRABUE, S.; SCOGGIN, K.; TJANDRAKUSUMA, S.; RASMUSSEN, M.A.; REILLY, P.J. Ruminal fermentation of propyleneglicol and glycerol. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v.50, p.7043-7051, 2007.

THRALL, M. A. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. 1ª ed. São Paulo. Roca. 2007. 582 p. 51

TULLIO, R.R. **Estratégias de manejo para produção intensiva de bovinos visando à qualidade da carne.** Tese (Doutorado em Zootecnia). 2004. 107. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004.

VAN CLEEF, E.H.C.B. **Glicerina bruta em dietas de bovinos da raça nelore confinados.** Tese (Doutorado em Zootecnia). 2012. 117 f. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2012.

VAN SOEST, P. J.; WINE, R.H. Use of detergents in analysis of fibrous feeds. IV. Determinations of plant cell-wall constituents. **Journal of the Association Analytical Chemists**, v.50, 1967.

CAPÍTULO 4 – IMPLICAÇÕES

No Brasil, o aumento da concentração obrigatória de biodiesel ao óleo diesel de 2% para 5% ocasionou incremento linear na produção de biodiesel até o ano de 2010 quando foi implantado o programa B5 (obrigatoriedade de adição de 5% de biodiesel ao óleo diesel). A partir de 2010 o crescimento do biodiesel foi menos expressivo, porém a geração de glicerina oriunda da produção de biodiesel continua sem destinação correta, pois a indústria é incapaz de absorver toda a produção.

É necessário encontrar rapidamente uma destinação economicamente viável e ecologicamente correta para a glicerina obtida do processo de produção do biodiesel e, a sua real utilização na alimentação de ruminantes está na dependência dos resultados de pesquisas que visam encontrar o balanceamento ideal dos nutrientes da dieta e conseqüentemente determinar o limite de inclusão deste subproduto na dieta de ruminantes.

A utilização de glicerina na alimentação animal é uma alternativa que deve ser colocada em prática. Diversos trabalhos já concluíram que a glicerina pode ser utilizada em substituição ao milho da dieta em concentrações de até 10% da matéria seca sem prejuízos ao desempenho e qualidade de carne. Porém o seu metabolismo ainda não está completamente elucidado, os resultados desse trabalho apontaram que a glicerina tem efeito sobre os microrganismos ruminais e que há necessidade de avaliar sua associação com outros ingredientes energéticos.

A utilização da polpa cítrica associada à glicerina precisa ser melhor estudada uma vez que a utilização da polpa cítrica influenciou negativamente a digestibilidade da fração fibrosa e produção das bactérias tanto da fase líquida quanto sólida contudo sem causar prejuízos ao desempenho e características da carne e da carcaça. Estudos relacionados à sincronização do fornecimento de energia e proteína no rúmen, fontes de carboidratos com diferentes taxas de degradação também são necessários, visando a máxima inclusão da glicerina nas dietas proporcionando menor custo com alimentação.