

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DIGESTÃO E FERMENTAÇÃO RUMINAL EM VACAS
LEITEIRAS RECEBENDO GLICERINA BRUTA NA DIETA**

Zinaldo Firmino da Silva

Zootecnista

JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL

2011

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DIGESTÃO E FERMENTAÇÃO RUMINAL EM VACAS
LEITEIRAS RECEBENDO GLICERINA BRUTA NA DIETA**

Zinaldo Firmino da Silva

Orientadora: Profa. Dra. Jane Maria Bertocco Ezequiel

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

JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL

Dezembro de 2011

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Zinaldo Firmino da Silva - nasceu em 23 de abril de 1976 na cidade de Surubim, Pernambuco. Graduiu-se em Zootecnia pela Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE (1999). Atuou, inicialmente, com atividades ligadas à produção de leite (Agribands Purina Ltda, em Pernambuco) e (Fazenda “Sítio do Canário”, em São Carlos, São Paulo). Em 2004 defendeu a dissertação de Mestrado em Zootecnia (Produção Animal) pela FCAV – Unesp, Campus de Jaboticabal, São Paulo. Em seguida, ingressou na carreira do Magistério Superior, tendo lecionado na Faculdade de Imperatriz (Facimp) e na Universidade Estadual do Maranhão (UEMA/CESI), ambas na cidade de Imperatriz, Maranhão. Em seguida, após aprovação em concurso público, tornou-se Professor Assistente na Universidade Federal do Maranhão/Centro de Ciências Agrárias e Ambientais (UFMA/CCAA), Campus de Chapadinha. Em março de 2008 iniciou o curso de Doutorado em Zootecnia (Nutrição de Ruminantes) pela FCAV – Unesp, Campus de Jaboticabal, tendo defendido a tese em dezembro de 2011.

“Somos o que repetidamente fazemos.
A excelência, portanto, não é um feito, mas um hábito.”

Aristóteles

A MINHA FAMÍLIA,

O bem mais valioso, a maior conquista e o maior presente de Deus.

A minha esposa Janaína e ao nosso filho de 1 ano – Heitor.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A DEUS, por me conceder a vida e as imerecidas e incontáveis bênçãos;

A minha tia-mãe Antônia, prima-irmã Cecília e esposa Janaína, pela contribuição à minha vida, torcida e paciência ao longo dessa jornada;

A Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, FCAV - UNESP, por meio da Coordenação de Pós-graduação em Zootecnia pela oportunidade de aperfeiçoamento científico;

A minha orientadora Profa. Dra. Jane Maria Bertocco Ezequiel, pela oportunidade de aprendizado, orientação e amizade;

A Universidade Federal do Maranhão – UFMA, pelo estímulo e apoio a realização deste treinamento;

A Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão - FAPEMA pela concessão de bolsa de estudos;

Ao Prof. Dr. Marcos Neves Pereira (UFLA) pelos ensinamentos nas disciplinas cursadas como aluno especial e pelo exemplo de profissionalismo científico.

A Corns Products do Brasil pela doação do glúten de milho.

A Caramuru Alimentos Ltda pela doação do farelo de girassol e da glicerina bruta.

Agradecimento especial, aos amigos Antônio Carlos Homem Junior (beicho), Marcelo Brando (debby) e a Luciana Giacometti (galopeira) que contribuíram decisivamente para a realização e sucesso deste trabalho;

Agradecimento especial ao Oldair (deco) e ao André Pastori (mamaki) pela amizade e auxílio em demais atividades do cotidiano da Unidade Animal;

Agradecimento especial, ao prof. Dr. Ivan Barbosa Machado Sampaio pela amizade, aprendizado e contribuições estatísticas ao meu trabalho;

Aos amigos Leandro Galzerano (brutus) e Eliane, Robertito e Liziane, Fabrício e a Regina em Jaboticabal e ao Gilson e Nilson em Lavras, pela amizade e convivência;

Aos membros da banca de Qualificação: Dr. Paulo de Figueiredo Vieira, Dr. Mauro Dal Secco de Oliveira, Dr. Alan Rodrigo Panosso e Dra. Maria Imaculada da Conceição e da banca de Defesa, Dr. Weber Vilas Boas Soares, Dra. Juliana Borsari Dourado Sancanari e Dr. Atushi Sugohara pelas contribuições a cerca do meu trabalho.

SUMÁRIO

	Página
Lista de tabelas	ix
Lista de figuras.....	xi
RESUMO	xii
SUMMARY	xiii
I. INTRODUÇÃO	1
II. REVISÃO DE LITERATURA	3
Caracterização da glicerina.....	3
Aproveitamento do glicerol em ruminantes.....	4
Efeito da glicerina no desempenho de vacas leiteiras.....	6
Efeito da glicerina sobre a fermentação ruminal.....	9
Análise multivariada de dados por componentes principais.....	15
III. MATERIAL E MÉTODOS	16
IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
V. CONCLUSÕES	31
VI. REFERÊNCIAS	32

Lista de Tabelas

	Página
1. Composição bromatológica dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais.....	17
2. Participação dos ingredientes e composição em nutrientes das dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta.....	17
3. Produção de leite, consumo de matéria seca e dos nutrientes em vacas recebendo teores crescentes de glicerina bruta na dieta.....	22
4. Tempos despendidos com atividade mastigatória de vacas recebendo teores crescentes de glicerina bruta na dieta.....	23
5. Coeficientes de digestibilidade da matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, fibra em detergente neutro (FDN) e da matéria orgânica descontada a FDN (DMOnFDN) de dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta.....	23
6. Correlação entre variáveis de produção de leite, consumo e digestibilidade e, os três componentes principais obtidos as dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta.....	24
7. Produção da massa microbiana ruminais em função da participação da glicerina bruta na dieta.....	28
8. Parâmetros de degradabilidade ruminal efetiva (DEF) e degradabilidade com 24h de incubação (DEG24h) da matéria seca dos ingredientes concentrados (Farelo de girassol, Glutenose de milho e Milho grão) e da Silagem de milho segundo os tratamentos.....	29
9. Parâmetros de cinética de passagem da fase sólida (taxa de fluxo total, do concentrado e da forragem em %/hora de dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta.....	29
10. Parâmetros de cinética de passagem da fase líquida (taxa de diluição, %/h;	

volume ruminal, L; tempo de reciclagem, horas; taxa de reciclagem, nº de vezes/24 horas; e taxa de fluxo, L/horas) de dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta.....	30
11. Produção de gases <i>in vitro</i> de dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta.....	31

Lista de Figuras

	Página
1. Gráfico biplot obtido da análise de componentes principais mostrando a distribuição das variáveis (A) e dos tratamentos (B).....	25
2. Variação do pH ruminal ao longo de 24h após a alimentação e em função dos tratamentos: (●) ausência de glicerina, (■) inclusão de 15% de glicerina na matéria seca da dieta e (▲) inclusão de 30% de glicerina na matéria seca da dieta.....	26
3. Variação nas concentrações de amônia ruminal (mg/dL) ao longo de 24h após a alimentação e em função dos tratamentos: (●) ausência de glicerina, (■) inclusão de 15% de glicerina na matéria seca da dieta e (▲) inclusão de 30% de glicerina na matéria seca da dieta.....	27

DIGESTÃO E FERMENTAÇÃO RUMINAL EM VACAS LEITEIRAS RECEBENDO GLICERINA BRUTA NA DIETA

RESUMO – Avaliou-se efeito da inclusão de 0, 15 e 30% de glicerina bruta (GB) na matéria seca (MS) de dietas em substituição ao milho grão moído sobre o consumo de MS, produção de leite (PL), fermentação ruminal e digestibilidade da MS (DMS) em vacas leiteiras. Foram utilizadas seis vacas multíparas, da raça Holandesa providas de cânula permanente de 4" no rúmen, estando no início do experimento com peso médio de 587 ± 39 kg, com 114 ± 29 dias em lactação e produzindo média de $20 \pm 1,5$ kg/leite em duas ordenhas diárias. As vacas foram distribuídas em dois quadrados latinos 3 x 3 com períodos de 21 dias, sendo 14 de adaptação. As dietas continham silagem de milho, milho grão, farelo de girassol, glúten de milho, uréia, vitaminas, minerais e GB (86% de glicerol, 95% MS, 6% sais e <100 g/kg de metanol) e foram oferecidas *ad libitum*, duas vezes ao dia, na forma de dieta total. A dieta controle - ausência de GB, continha 36% de milho; a dieta com 15% e 30% de GB continham, respectivamente, 19,3 e 2,8% de milho. A utilização da GB na dieta reduziu a PL ($P=0,10$), o consumo de MS ($P=0,08$), os tempos gastos com atividade mastigatória ($P<0,03$), a digestibilidade da FDN ($P<0,04$) e a produção de bactérias associadas à fase líquida do rúmen ($P=0,04$). Não foram observadas diferenças quanto a cinética de degradação e passagem. Porém, houve aumento na concentração de metano quando a GB foi incluída na dieta. A utilização de glicerina bruta (86% de glicerol) em 15% da matéria seca da dieta de vacas em lactação deprime produção de bactérias de fase líquida, digestibilidade da fibra e desempenho. A sua inclusão em até 10% parece ser o limite ótimo.

Palavras-chave: biodiesel, bovinos, glicerol, metano, nutrição animal, rúmen.

DIGESTION AND FERMENTATION IN LACTATING DAIRY COWS FEEDING WITH CRUDE GLYCERIN

SUMMARY – The purpose of this work was to evaluate the effect of the inclusion of 0, 15 and 30% crude glycerin (CG) in the MS diet in replacement of corn grain (diet control) on the ground on the dry matter intake (DMI), milk production (MY), rumen fermentation and dry matter digestibility in dairy cows. We used six multiparous Holstein cows rumen cannulated, being at the experiment with 587 ± 39 kg BW, 114 ± 29 DIM and with average 20 ± 1.5 kg/d MY in two daily milkings, distributed in two 3x3 Latin Square with 21-days periods. The diets contained corn silage (45% DM), corn grain, sunflower meal, corn gluten meal, urea, vitamins, minerals and CG (86% glycerol, 95% DM, salts 6% and <0.1 ppm of methanol). Cows were individually fed on total mixed ration in twice daily. The control diet - no glycerin, containing 36% corn, the diet with 15% and 30% contained GB, respectively, 19.3 and 2.8% of the corn. The use of the CG in the diet reduced the MY ($P=0.10$), DMI ($P=0.08$), the time chewing activities ($P<0.03$), NDF digestibility ($P=0.04$) and the liquid-associated bacteria content ($P=0.04$). There were no differences in the kinetics of degradation and passage. However, increased methane output when GB was in the diet. The use of crude glycerin (86% glycerol) in 15% of the diet dry matter for lactating cows depresses production of bacteria in the liquid phase, fiber digestibility and performance. Inclusion in up to 10% seems to be the optimum limit.

Keywords: biodiesel, dairy cattle, glycerol, methane, animal nutrition, rumen

I. INTRODUÇÃO

A participação de um ingrediente na dieta animal é definida pela sua contribuição nutricional, disponibilidade e, sobretudo, preço. Assim, devido ao impacto econômico da alimentação nos custos da produção animal, novos ingredientes – subprodutos agroindustriais devem ser buscados e analisados quanto à sua viabilidade de utilização.

Diversos subprodutos têm sido disponibilizados com o incremento recente da produção do biodiesel. Dentre eles, a torta e o farelo, oriundos da prensagem dos grãos para a extração do óleo vegetal, e mais recentemente, a glicerina, resíduo do processo do beneficiamento do óleo em biodiesel.

A glicerina possui na sua composição grande quantidade de glicerol, e embora isto lhe confira alta energia bruta (4.320 kcal/kg) – classificando-a como um ingrediente energético de uso potencial na alimentação animal, tradicionalmente, a glicerina tem sido utilizada na forma purificada (>95% de glicerol) como matéria-prima para as indústrias farmacêuticas, de cosméticos e alimentícias (THOMPSON & HE, 2006). A novidade, portanto, tem sido a possibilidade de seu uso como macro ingrediente na alimentação animal ainda no estado bruto (glicerina bruta, GB), a qual é isenta de qualquer processo de purificação e, portanto, dos custos inerentes a este processo.

Devido o aumento da produção mundial da GB e conseqüente redução do seu preço (FAO, 2007), contrariamente ao observado com o milho – principal ingrediente energético para rações animais (PENZ JÚNIOR & GIANFELICE, 2008), recentemente a GB tem recebido grande destaque como opção alternativa ao milho em dietas de ruminantes (DASARI, 2007; DRACKLEY, 2008; DONKIN, 2009). Todavia, a sua utilização como alimento para vacas leiteiras precisa de avaliação. No Brasil, desde a criação da Lei 11.097, de 13/01/2005, um percentual de biodiesel tem sido adicionado ao diesel fóssil, representando atuais 5% de inclusão. Com isso, a produção da GB no país saltou de 736 m³ em 2005 para 257.900 m³ em 2010 (ANP, 2011).

O glicerol está presente no tecido adiposo dos animais ou em óleos vegetais associado a três ácidos graxos de cadeia longa sob a forma de triacilglicerol. Ele é um

precursor gliconeogênico (CHAMPE & HARVEY, 1994) e apresenta valor energético similar ao do amido do milho (SCHRÖDER & SÜDEKUM, 1999; DONKIN, 2008). O aproveitamento biológico das relações de substituição destes nutrientes em vacas leiteiras tem sido buscado através de estudos recentes sobre o desempenho lactacional (DONKIN et al., 2009; SHIN et al., 2009) e fermentação ruminal *in vitro* (ABO EL-NOR et al., 2010; ABUGHAZALEH et al., 2010) e *in situ* (BOYD et al., 2009). Todavia, nestes estudos foram utilizadas dietas contendo a glicerina purificada e, majoritariamente, a alfafa como forragem exclusiva. Por outro lado, estudos sobre desempenho de vacas leiteiras que utilizaram a GB e em dietas com silagem de milho (VITO; ZACARONI, 2010) não incluíram mais que 20% na dieta. Sabidamente, existem diferenças na fermentação ruminal quanto ao tipo da forragem (SHIN et al., 2009; FERRARO et al., 2010) e nível de inclusão e pureza da glicerina utilizada na dieta (SCHRÖDER & SÜDEKUM, 1999).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da alta inclusão da glicerina bruta em substituição ao milho grão moído em dietas com silagem de milho sobre o consumo, produção de leite, parâmetros ruminiais, cinética de degradação e passagem, produção da massa microbiana, produção de metano e digestibilidade em vacas lactantes.

II. REVISÃO DE LITERATURA

CARACTERIZAÇÃO DA GLICERINA

A glicerina é o principal subproduto da indústria do biodiesel. Ela é resultado da reação de transesterificação do óleo vegetal ou gordura de origem animal quando em contato com um álcool (metanol ou etanol) na presença de um catalisador (podendo ser ácido, básico ou biológico) (PLÁ, 2002). Após a reação e, por diferença de densidade, ocorre a precipitação da glicerina permitindo a retirada do biodiesel (SOUZA, 2006). Assim, o termo glicerina refere-se ao glicerol na forma comercial, com pureza acima de 95%, sendo conhecida como 1,2,3 propanotriol (IUPAC, 1993). O glicerol descoberto por Scheele em 1779 é um composto orgânico pertencente à função química álcool. É líquido à temperatura ambiente (25 °C), higroscópico, inodoro, viscoso e de sabor adocicado. Sua temperatura de fusão é de 17,8 °C e decompõe-se à 290 °C, sendo miscível em água e álcool (PACHAURI & HE, 2006).

De maneira geral, existe quatro tipos de glicerina que podem ser obtidas: a bruta (contém muito catalisador da transesterificação, bastante etanol, água, ácido graxos e sabões); a loura (bruta após receber tratamento ácido, seguido de remoção dos ácidos graxos - 75 a 85% de glicerol, sais, água e traços de etanol); grau farmacêutico (loura após ser bidestilada a vácuo e tratada com absorventes - mais de 99% de pureza); e grau alimentício (completamente isenta de etanol, pode ser obtida pela hidrólise de óleos/gorduras) (BIODIESELBR, 2008). A variação na composição da glicerina bruta foi verificada por HANSEN et al. (2009) em pesquisa realizada na Austrália. Onze amostras de glicerina bruta oriundas de sete plantas diferentes apresentaram diferentes concentrações de MS (84 a 100%), glicerol (38 a 96%) e de metanol (<0,01 a 14%)

Atualmente, a glicerina vem sendo utilizada principalmente na indústria química para síntese de resinas e ésteres (18%), na indústria farmacêutica (7%), em cosméticos (40%), uso alimentício como umectante e conservante, no preparo de molhos para saladas, coberturas de doces e sobremesas geladas (24%) e outros (11%). Entretanto,

acredita-se que o excesso de produção de glicerina do biodiesel extrapolará a capacidade de utilização das indústrias químicas e farmacêuticas nos próximos anos (DONKIN, 2008). Aliada a crescente preocupação com o meio ambiente e à busca por fontes alternativas de energias renováveis, o biodiesel tem ocupado o centro das atenções e interesses, por ser considerado um combustível ecológico, biodegradável, atóxico, livre de enxofre e compostos aromáticos (ABDALLA et al., 2008).

O Brasil adotou desde 2004 o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel, que prevê a adição de biodiesel ao diesel fóssil. Em 2008, todo diesel comercializado passou a ter obrigatoriamente 3% de biodiesel, em 2009 este percentual subiu para 4% e desde 2010 passou a ser de 5%. Com a implementação deste programa, grande excedente de glicerina tem sido gerada, já que para cada 90 m³ de biodiesel produzidos pela reação de transesterificação de óleos vegetais são gerados 10 m³ de glicerina (GONÇALVES et al., 2008).

APROVEITAMENTO DO GLICEROL EM RUMINANTES

O glicerol está presente em todos os óleos e gorduras de origem animal e vegetal, em sua forma combinada, ou seja, ligado a ácidos graxos, tais como o ácido estereárico, oléico, palmítico e láurico para formar a molécula de triacilglicerol (CHAMPE & HARVEY, 1994). Segundo CHUNG et al. (2007) o glicerol é um importante componente estrutural dos triglicerídeos e dos fosfolípidios. Quando o organismo utiliza a reserva corporal de gordura como fonte de energia, glicerol e ácidos graxos são liberados no fluxo sanguíneo, podendo ser convertidos em glicose no fígado (KREBS et al., 1966) e rins (KREBS & LUND, 1966) para prover energia ao metabolismo celular. O seu potencial de uso na alimentação animal se baseia no fato de ser uma substância gliconeogênica similar ao propileno glicol, o qual tem sido utilizado com eficiência desde 1954 (JOHNSON et al., 1955) na prevenção de cetose em vacas de alta produção de leite (JOHNS et al., 1953; FISHER et al., 1971; SAUER et al., 1973; SCHRÖDER & SÜDEKUM, 1999).

O glicerol como precursor da glicose pode melhorar o suprimento energético para vacas leiteiras de alta produção no período pré e pós-parto (período de transição), apresentando impacto positivo na saúde e desempenho durante a lactação. Assim, a glicerina purificada na dieta de vacas leiteiras tem sido utilizada como um aditivo preventivo de distúrbios metabólicos associados ao período de transição, sendo a recomendação para esta fase de 5 a 8% na matéria seca da dieta (DONKIN, 2008).

Informações mais recentes indicaram que a absorção líquida do glicerol em vacas é limitada, mesmo quando grandes quantidades são administradas (DRACKLEY, 2008). O que foi comprovado por KRISTENSEN & RAUN (2007) ao avaliarem a absorção e metabolismo do glicerol pelo fígado em vacas recebendo diariamente 0,95 kg de glicerina (85% de glicerol) via cânula ruminal. Eles verificaram que apenas 10% do glicerol administrado foi recuperado como glicerol na veia porta e que quase todo o glicerol absorvido foi tomado pelo fígado e, provavelmente, convertido em glicose. Os autores sugeriam que o restante do glicerol que não foi recuperado na veia porta pode ter sido fermentado no rúmen. Embora, existam evidências que o glicerol pode deixar o rúmen por diversas vias e dependendo da dose diária recebida, apresentar alteração nas proporções em cada uma delas. KREBHIEL (2008) comprovou que 13% do glicerol deixam o rúmen por passagem com a digesta, 44% por fermentação e 43% por absorção pela parede ruminal.

Segundo a “Food and Drug Administration” (FDA, 21 C.F.R. 582.1320) a glicerina tem seu uso seguro e reconhecido na alimentação animal, no entanto, o teor de metanol presente na GB deverá ser levado em consideração, não devendo ultrapassar 150 ppm.

EFEITO DA GLICERINA NO DESEMPENHO DE VACAS EM LACTAÇÃO

Estudos em que foram adicionados até 10% de glicerina purificada na MS da dieta em substituição aos grãos, demonstraram que a glicerina é um ingrediente em potencial para vacas em lactação, principalmente, até pico da lactação, pois contém praticamente o mesmo teor de energia na MS que o milho, e essa substituição não causou impactos sobre a produção e qualidade do leite. No entanto, a pureza é uma variável a ser considerada, por conter água, metanol, fósforo e potássio em sua composição (DRACKLEY et al., 1992).

A determinação da energia líquida de lactação (NE_L) da glicerina purificada obteve média de 2,5 Mcal/kg em vacas, sendo igual ou superior ao milho (SCHRÖDER & SÜDEKUM, 1999). Nos seus ensaios de digestibilidade *in vivo* e *in vitro* estimaram valores médios de 1,9 e 2,3 Mcal/kg quando adicionaram 10 e 20% de glicerol combinado com dietas com alto e baixo amido no concentrado, respectivamente. Foi verificado ainda por esses autores que, quanto menor o teor de amido na dieta maior o valor de NE_L da glicerina a qualquer das concentrações incluídas na dieta.

Outro estudo apresentou aumento nas respostas lactacionais quando as vacas foram suplementadas com glicerina purificada como fonte energética no pré-parto (OGBORN, 2006). A utilização de glicerina purificada como fonte energética parcial tem-se mostrado viável em várias fases da lactação, no pré-parto (FISHER et al., 1973; DE FRAIN et al., 2004), no início da lactação (FISHER et al., 1971) e no meio da lactação (KHALILI et al., 1997).

A substituição de milho moído por glicerina purificada em dietas variando no tipo da forragem em associação a silagem de milho - feno de alfafa ou de tifton foi testada por SHIN et al. (2009). Vinte e quatro vacas, com 116 ± 13 dias em lactação, foram alocadas a seis combinações possíveis de dois fatores por três períodos de 27 dias. Os fatores foram: dieta com 37% de silagem de milho e 10% de feno de alfafa ou dieta com 25% de casca de algodão e 10% de feno de tifton em arranjo fatorial de tratamentos com 0, 5 e 10% de glicerina (90% de glicerol). A dieta com silagem de milho, alfafa e 0% de glicerina continha 17,6% de milho moído e a dieta com casca de algodão, tifton e

0% de glicerina tinha 32,3% de milho. A relação entre a produção de leite e o consumo de MS foi menor nas dietas com 5% de glicerina. O aumento da participação da glicerina na dieta reduziu linearmente a concentração de nitrogênio uréico no plasma, 16,1, 15,5 e 13,8 mg/dL, nos tratamentos 0, 5 e 10%, respectivamente. Não foi detectado efeito da suplementação com glicerina sobre a glicose plasmática e sobre o pH ruminal. Houve tendência de aumento na produção diária de leite de 34,4 para 35,6 kg quando a glicerina substituiu milho na dieta contendo silagem de milho, mas houve tendência de queda de 37,7 para 36,4 kg quando glicerina foi adicionada a dieta com casca de algodão. Os autores concluíram que teores dietéticos de até 10% de glicerina podem ser usados para vacas em lactação sem prejuízos ao desempenho.

A resposta de vacas leiteiras ao aumento no teor dietético de glicerina purificada foi avaliada por BOYD et al. (2009). Seis vacas em lactação receberam três tratamentos em QL 3x3 com períodos de quatro semanas. Os tratamentos foram: Controle, 200 g de glicerina ou 400 g de glicerina. O consumo de MS foi 24,2 kg no Controle, enquanto foi 23,0 kg nos tratamentos com 200 e 400 g de glicerina. A produção diária de leite foi maior no tratamento Controle do que no tratamento com 400 g de glicerina, sendo 37,2 e 35,8 kg respectivamente, mas não diferiu do tratamento com 200 g, de 37,2 kg. O teor de proteína no leite foi maior no tratamento com 400 g de glicerina e o teor de gordura foi maior no Controle.

A substituição parcial de milho por uma mistura isoprotéica de glicerina purificada (99,5% de glicerol) e glúten de milho (6,25:1) foi testada por DONKIN et al. (2009). Os autores utilizaram sessenta vacas, com 173 ± 47 dias em lactação, alocadas em quatro tratamentos, 0, 5, 10 ou 15% da MS de glicerina por 56 dias. A dieta controle continha 20% de milho maduro finamente moído e a dieta com 15% de glicerina continha 2,8% de milho. A produção diária de leite foi aproximadamente 37,0 kg e não foi afetada por tratamento, variando entre 36,4 kg no tratamento com 15% de glicerina e 37,3 kg no tratamento com 10%. Na última semana do período experimental os autores observaram redução no consumo de MS no tratamento com 15% de glicerina. O teor de N-uréico no leite foi 12,5 mg/dL no tratamento controle e 10,6 mg/dL nos tratamentos com glicerina. Não foi detectado efeito de tratamento sobre o teor de sólidos do leite.

Estes dados sugeriram que foi adequada a substituição de milho por glicerina purificada, em inclusões até 15% da MS da dieta. Assim, há necessidade de se estudar a inclusão de glicerina purificada na dieta de vacas em lactação após o período de transição e em concentrações maiores que 15% na MS da dieta.

A resposta de vacas leiteiras a substituição total de milho maduro finamente moído por GB foi avaliada (ZACARONI, 2010). Foram utilizadas dezoito vacas da raça Holandesa em seis grupos de três animais, aleatoriamente alocadas a uma seqüência de três tratamentos em Quadrados Latinos 3×3 com períodos de 28 dias. As vacas foram alimentadas individualmente com dieta completa. Os tratamentos foram: dieta basal (Controle) contendo 14,8% de milho, dieta basal acrescida de um aditivo em teste, ou substituição de milho no Controle por mistura isoprotéica de 12,3% de GB e farelo de soja (Glicerina). Apenas o contraste Controle vs. Glicerina será discutido. A GB continha 6,3% de umidade, 76,2% de glicerol e 8800 ppm de metanol na matéria natural. A substituição de amido de milho por GB deprimiu a produção diária de leite de 23,4 para 21,3 kg ($P=0,02$), sem afetar o consumo ($P=0,85$), resultando em queda na eficiência alimentar ($P=0,01$). A secreção diária de lactose foi menor na Glicerina ($P=0,01$), havendo também tendência fraca de queda na secreção láctea de proteína ($P=0,13$). A concentração plasmática de glicose foi menor na Glicerina ($P=0,03$). Na Glicerina houve aumento na proporção molar e no teor de butirato no fluido ruminal ($P<0,05$) e queda na proporção de acetato ($P=0,01$), sem afetar a de propionato ($P=0,18$), resultando em queda na relação entre acetato e propionato ($P=0,04$). O consumo de matéria orgânica digestível (MOD) não diferiu ($P=0,29$), apesar da digestibilidade aparente da matéria orgânica no trato digestivo total ter sido maior na Glicerina ($P=0,02$). Houve queda na relação entre a secreção diária de energia no leite e o consumo de MOD na Glicerina ($P=0,01$). Não houve evidência de mudança na síntese relativa de proteína microbiana estimada pela excreção diária de alantoína na urina ($P=0,87$) ou na eficiência de síntese microbiana estimada pela relação entre a alantoína excretada e o consumo de MOD ($P=0,64$). A ingestão por unidade de tempo foi maior na Glicerina ($P=0,03$), o tempo de ruminação não diferiu ($P=0,36$). A substituição total de milho por GB reduziu a produção de leite e a eficiência alimentar,

menor disponibilidade de glicose para síntese mamária de lactose foi um mecanismo plausível na resposta.

Em outro experimento com vacas em lactação foi avaliada a substituição do milho por GB (85% de glicerol) em 0; 33,3; 66,6 e 100% na MS da dieta sobre o desempenho, digestibilidade e metabolismo de compostos nitrogenados (VITO, 2010). Foram utilizadas 12 vacas da raça Holandesa, distribuídas em três Quadrados Latinos 4x4. A dieta continha iguais proporções de silagem de milho e concentrado. A substituição do milho permitiu a participação da GB em 0, 7, 15 e 21% na MS. Foram observadas redução no consumo de MS e demais nutrientes ($P<0,05$) com 33,3% de substituição do milho pela GB. Exceção apenas para o consumo de EE que aumentou quando a substituição foi de 66%. Não foi observado efeito no consumo de carboidratos não fibrosos (CNF). Houve aumento na digestibilidade da MS, MO, PB, CNF e no teor de NDT ($P<0,05$) quando de 66% de substituição, sem repercussão nos consumos de MS e MO digestíveis. Observou-se aumento apenas da digestibilidade do EE a partir de 33% de substituição. A síntese de N microbiano foi reduzida com 33% de substituição. A produção de leite foi afetada a partir de 66% de substituição do milho pela GB (31,14; 29,77; 28,42 e 28,14 kg/dia), embora, não tenham sido percebidas alterações nas concentrações dos componentes do leite.

EFEITO DA GLICERINA SOBRE A FERMENTAÇÃO RUMINAL

A fermentação ruminal é o resultado de atividades físicas e microbiológicas que transformam os componentes da dieta em produtos que são úteis (ácidos graxos voláteis, proteína microbiana e vitaminas do complexo B e vitamina K), inúteis (gases metano e dióxido de carbono) e inclusive, nocivos (amônia, nitrato etc.) para o animal hospedeiro (OWENS & GOETSCH, 1993).

O impacto da adição de glicerina em culturas de microrganismos *in vitro* sobre o crescimento, adesão e atividade celulolítica foi avaliado por ROGER et al. (1992). Foi evidenciado que as duas maiores espécies de bactérias celulolíticas - *Ruminococcus*

flavefaciens e *Fibrobacter succinogenes* foram afetadas. Ao utilizarem baixa concentração (0,1 a 1% do volume) não houve efeito em nenhuma das variáveis estudadas. Entretanto, a adição de 5% de glicerina causou efeito negativo sobre o crescimento e atividade celulolítica desses microrganismos. OVERTON (2007) alertou que quando utilizada grande quantidade de glicerina na dieta (acima de 1,25 kg/dia) pode ocorrer efeito negativo sobre a atividade de bactérias celulolíticas. A inclusão de 10% de glicerina na matéria seca da dieta não causou efeito sobre a ingestão de alimento e de água, sobre a degradação ruminal, digestibilidade dos nutrientes, e sobre a microbiota ruminal (SCHRÖDER & SÜDEKUM, 1999).

Conforme comentado por DONKIN (2008), o glicerol não é um carboidrato, porém é fermentado no rúmen a ácidos graxos de cadeia curta, de modo que 50 a 70% do glicerol desaparecem do rúmen em 4 horas, aumentando a produção de propionato. Outros pesquisadores reportaram aumentos nos teores de ácido acético e propiônico (WRIGHT, 1969) ou nos ácidos propiônico e butírico (CZERKAWSKI & BRECKENRIDGE, 1972). Resultados semelhantes foram obtidos por RÉMOND et al. (1993) ao avaliarem a fermentação *in vitro*.

A resposta em perfil de fermentação ruminal a aumento no teor dietético de glicerina foi avaliada por BOYD et al. (2009). Seis vacas em lactação receberam três tratamentos em Quadrados Latinos 3 x 3 com períodos de quatro semanas. Os tratamentos foram: Controle, 200 g de glicerina ou 400 g de glicerina. O consumo de MS foi 24,2 kg no Controle, enquanto foi 23,0 kg nos tratamentos com 200 e 400 g de glicerina. A proporção molar de propionato no líquido ruminal aumentou e a de acetato diminuiu com a suplementação de 400 g de glicerina comparativamente ao Controle.

Pesquisa realizada por JOHNSON (1953) demonstrou que a fermentação ruminal *in vitro* ou *in vivo* de glicerol resultou na formação de propionato. Após duas horas de incubação ruminal menos de 80% da quantidade inicial de glicerol foi encontrada no fluido, cerca de 50% desapareceu com quatro horas de incubação e o desaparecimento foi total após 24 horas de fermentação. GARTON et al. (1961) também não detectaram glicerol no meio de cultura após 24 horas de incubação *in vitro* em fluido ruminal de ovelha, o AGV predominante foi propionato. Bactérias anaeróbicas facultativas

fermentam o glicerol, mas as mais importantes fermentadoras de glicerol parecem ser bactérias estritamente anaeróbicas como *Selenomonas ruminantium*, produtoras de propionato (HOBSON & MANN, 1961).

O glicerol apresenta diversas via de desaparecimento do rúmen. KREHBIEL (2008) relatou 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. Baseado em observações *in vitro*, a espécie que mais metabolizou o glicerol foi a *Selenomonas* e os produtos finais foram propionato, lactato, succinato e acetato. Entretanto, outros produtos da fermentação ruminal de glicerol tem sido relatados. A metabolização ruminal de glicerol, *in vitro* e *in vivo*, pode resultar em aumento pequeno na proporção molar de propionato e aumento na concentração de butirato, diferentemente de estudos clássicos onde foi observado aumento de propionato (JOHNS, 1953; GARTON et al. 1961). Quando ocorre aumento de butirato no rúmen, também tem sido detectado aumento de β -OH-butirato no sangue.

A infusão intraruminal de 200g de glicerol, duas vezes ao dia, aumentou o glicerol plasmático de 0,06 para 0,19mM em garrotes (KIJORA et al., 1998). O desaparecimento ruminal do glicerol infundido ocorreu rapidamente apos a infusão e não foi detectado glicerol na digesta duodenal. Mais de 85% do glicerol infundido desapareceu do rúmen em duas horas. KREHBIEL (2008) sugeriu que a velocidade de desaparecimento de glicerol do rúmen aumentou em animais previamente adaptados a este substrato.

A fermentação ruminal de glicerol em experimentos *in vitro* e *in vivo* foi avaliada por RÉMOND et al. (1993). Nesse estudo duas vacas canuladas no rúmen receberam dietas baseadas em silagem de milho e duas vacas receberam dietas baseadas em feno gramínea, ambas sem a adição de glicerina purificada. Após duas semanas, uma solução aquosa contendo 80% de glicerol foi administrada diariamente no rúmen, objetivando obter uma massa diária de 240 g de glicerol infundido. Um animal recebendo cada forragem recebeu 1,2 kg de glicerina por mais duas semanas. Em fermentadores contendo amido como substrato o desaparecimento de glicerol ocorreu rapidamente, enquanto o uso de celulose como substrato retardou o desaparecimento

para 4 a 6 horas após o início da fermentação. A taxa de desaparecimento do glicerol foi 0,62 g/h quando amido foi o substrato fermentativo e 0,52 g/h quando o substrato foi celulose. O aumento na quantidade infundida de glicerol aumentou a sua velocidade de desaparecimento ruminal. A adição de glicerol em fermentadores contendo celulose aumentou a produção de AGV durante as primeiras 6 horas de incubação, mas não teve efeito nos fermentadores contendo amido. A infusão de glicerol reduziu a proporção de acetato e aumentou a proporção de propionato e butirato no fluido *in vitro*.

O efeito da substituição de milho por glicerol utilizando fermentadores contínuos foi avaliado por ABO EL-NOR al. (2010). Os tratamentos foram: dieta controle com 60% de forragem e 12% de milho, e dietas contendo 15, 30 e 45% de glicerol em substituição ao milho. A digestibilidade da FDN foi menor nos tratamentos contendo substituição de 30 e 45% de glicerol. Estes tratamentos induziram redução na concentração de acetato no fluido, aumento nos teores de butirato, valerato e isovalerato e menor concentração de DNA de *Selenomonas ruminantium*. Na substituição de 45% de glicerol a concentração de DNA de *Butyrivibrio fibrisolvens* e de bactérias total foi reduzida, mas não foi detectada queda na concentração de DNA de *Ruminococcus albus*. Na dieta controle houve maior concentração de C18:1, C18:2 e C18:1 *trans*. Os autores concluíram que a inclusão de glicerina purificada até 15% não afetou negativamente a fermentação ruminal, mas inclusões mais elevadas podem deprimir a digestão fibrosa, o crescimento microbiano e a produção de acetato.

Outro estudo envolveu a substituição do milho ou melaço de cana por glicerina bruta (42,5% de glicerol) em cultivo contínuo (RICO et al., 2009). A inclusão dietética de glicerina foi de 4% em substituição ao milho ou ao melaço da dieta controle. Houve tendência de aumento na relação entre acetato e propionato quando glicerina foi comparada ao melaço (2,8 vs. 2,5). A proporção molar de butirato foi menor na glicerina comparada com amido e melaço (13, 16 e 18% do total de AGV). A concentração de amônia foi mais alta no tratamento com glicerina e a digestibilidade da MS menor em relação ao amido, mas não diferiu do melaço.

Oito garrotes canulados no rúmen foram alimentados com dieta controle - sem glicerina purificada, e com 100, 200 e 300 g de glicerina por dia (99% de glicerol)

(WANG et al., (2009). A dieta controle continha 60% de palha de milho e 20,8% de milho maduro moído. A concentração de amônia no fluido ruminal reduziu linearmente, sugerindo que a glicerina pode ter aumentado a eficiência de síntese microbiana ou a desaminação ruminal de aminoácidos.

Com o objetivo de avaliar os efeitos da substituição de milho por glicerina como alternativa alimentar, ABUGHAZALEH et al. (2010) utilizaram conteúdo ruminal de duas vacas canuladas no rúmen em fermentadores contínuos. Quatro fermentadores foram alocados em Quadrados Latinos 4x4 com períodos de 10 dias consecutivos. Os tratamentos foram 0; 3,6; 7,2 e 10,8% de inclusão da glicerina purificada (99,5%) na MS da dieta. A glicerina substituiu o milho em 0, 15, 30 e 45%. As dietas consistiram de 60% feno de alfafa e 40% concentrado. A proporção molar de acetato decresceu e as de butirato, valerato e isovalerato aumentaram nas dietas com glicerina. As concentrações de DNA de *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Selenomonas ruminantium* e *Clostridium proteoclasticum* foram reduzidas com 7,2 e 10,8% de glicerina na dieta. Porém, não encontraram efeito sobre *Ruminococcus albus* e *Succinivibrio dextrinosolvens*. Os resultados deste estudo sugeriram que a substituição do milho por glicerina em altos níveis afeta negativamente a fermentação ruminal, produção de acetato e população de bactérias.

O perfil de fermentação ruminal e a produção de gás *in vitro* foi testada para três fontes energéticas para ruminantes: glicerina, propileno glicol e melaço (FERRARO et al., 2009). Foram incubados com líquido ruminal de ovinos os substratos: alfalfa, silagem de milho, glicerina (320 e 640 µL), propileno glicol (320 e 640 µl) e melaço (320µL). O maior volume de gás produzido foi observado com a maior dose de glicerina e também a menor taxa de produção do gás e “lag time”. A fermentação da glicerina resultou na redução do acetato, pequeno aumento do propionato e um aumento percentual no butirato. A fermentação do glicerol reduziu acetato e aumentou a proporção molar de butirato.

O fornecimento de AGV e glicerina purificada foram avaliados sobre a digestibilidade *in vitro* da MS do feno de aveia e sobre a atividade celulolítica no ambiente ruminal por PAGGI et al. (2004). Os AGV's foram fornecidos através de uma

solução salina nas concentrações de 50, 100, 200 e 300 mM. O aumento na oferta de 200 e 300 mM AGV reduziu a digestibilidade *in vitro* da MS entre 7 e 39%.

Quatro vacas, não lactantes, canuladas no rúmen, foram alimentadas com silagem de milho (n=2) ou feno (n=2) e receberam diariamente 240 ou 1200 g de MS de glicerol via cânula ruminal, depois de um período controle (RÉMOND et al., 1993). Foram utilizados cinco fermentadores *in vitro* contendo líquido ruminal de vacas. Os autores demonstraram habilidade do líquido ruminal em degradar o glicerol com o aumento do seu fornecimento e foi ainda maior quando amostras de silagem de milho foram utilizadas. A adaptação microbiana foi imediata, com a taxa máxima de degradação ocorrendo no primeiro dia. A administração *in vivo* de 240 ou 480 g de glicerina diretamente no rúmen permitiu o desaparecimento em quatro horas. A proporção de glicerol absorvido e transformado em propionato foi de 35-69% da quantidade administrada de 240 g, concordando com a taxa de desaparecimento usada nos cálculos.

O impacto da inclusão de teores crescentes de glicerina purificada na fermentação e produção de metano *in vitro* em dietas de confinamento baseadas em grãos de cevada foi avaliado (ÁVILA et al., 2011). Os tratamentos foram 0, 7, 14 e 21% de glicerina na matéria seca da dieta com igual proporção de silagem de cevada e concentrado de cevada. O líquido ruminal foi obtido de duas vacas alimentadas com 70% de silagem de cevada, 25% de grãos de cevada e 4% de outro concentrado. O desaparecimento *in vitro* da MS, o pH da cultura e a produção total de metano (mg de CH₄ ou mg de CH₄/g de consumo de MS) não apresentaram diferenças entre os tratamentos. Entretanto a inclusão do glicerol reduziu a concentração molar de acetato e butirato e aumentou a de propionato.

A taxa de fermentação ruminal *in vitro* e a produção de metano do glicerol, foi objetivo do estudo de LEE et al. (2011). Estes autores usaram os tempos de colheita do fluido ruminal de 0, 3, 6, 12, 24 e 48 horas e obtiveram taxa fracional de produção de gás 0,05/hora com “lag time” de 7,9 horas. A produção máxima de gás com o glicerol foi de 243 mL/g. A adição de glicerol reduziu a produção de metano, não a produção total

de AGV em 24 horas. Estes resultados sugeriram aumento na eficiência do uso da energia quando utilizado o glicerol. A fermentação do glicerol foi relativamente baixa.

ANÁLISE MULTIVARIADA DE DADOS: ANÁLISE EM COMPONENTES PRINCIPAIS

A análise multivariada de dados utiliza equações matemáticas que relacionam fatores e interconexões dentro do sistema permitindo estabelecer o comportamento, as relações, interações e dinâmica entre as variáveis estudadas e os fatores que determinam mudanças no sistema. Dessa forma, o desenvolvimento de modelos matemáticos e a simulação são importantes para entender a intensidade e o padrão do comportamento que uma variável exerce sobre outras variáveis, que nem sempre são medidas concomitantemente em experimentos no campo (HAIR et al., 2005).

A análise em componentes principais (ACP) é uma técnica estatística em que se admitindo que haja L observações para n variáveis, no espaço L - dimensional das observações as n variáveis correspondem a n vetores. Um grupo de variáveis, fortemente, correlacionadas entre si corresponde a um feixe de vetores. Os feixes são detectados com a utilização da análise em componentes principais. Se houver um número substancial de variáveis formando um desses feixes, deverá ser obtido um fator altamente correlacionado com as variáveis que formam o feixe (HOFFMAN, 1992).

A ACP reduz a quantidade de variáveis originais num conjunto menor, preservando o máximo da variabilidade original. Esta técnica cria eixos ortogonais, que são combinações lineares das variáveis originais, partindo dos autovalores da matriz de covariância das variáveis consideradas. Os dois maiores autovalores geram os dois primeiros componentes principais, que agregam maior quantidade da variabilidade. Em síntese, a ACP tem por objetivo obter um pequeno numero de combinações lineares (componentes principais) de um conjunto de variáveis, que retenham o máximo possível da informação nelas contida (JOHNSON & WICHERN, 1992).

A ACP já foi utilizada em diversos trabalhos de Zootecnia, entre eles estudos de nutrição e alimentação de ruminantes sobre a avaliação da qualidade nutricional de

forragens (AZEVEDO et al., 2003; ZANINE et al., 2008) e de ingestão de MS de vacas em pastejo (LOPES et al., 2004).

III. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado na Unidade Animal de Estudos Digestivos e Metabólicos e as análises laboratoriais no Laboratório de Ingredientes e Gases Poluentes (LIGAP), pertencentes ao Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Unesp, Campus de Jaboticabal, no período de janeiro a março de 2010.

Foram utilizadas seis vacas multíparas da raça Holandesa providas de cânula permanente de 4" no rúmen, estando no início do experimento com média de 587 ± 39 kg de peso, 114 ± 29 dias em lactação e produzindo $20 \pm 1,5$ kg de leite em duas ordenhas. As vacas foram alojadas em instalação do tipo "tie stall" com acesso irrestrito a bebedouros e comedouros individualizados e, distribuídas um duplo quadrado latino 3 x 3 de acordo com a ordem de parição e produção de leite. O experimento contou com três períodos de 21 dias cada, subdivididos em 14 dias de adaptação e 7 dias para colheita.

As dietas continham silagem de milho, milho grão, farelo de girassol, glúten de milho, uréia, vitaminas, minerais e GB (Tabela 1). A GB foi obtida do óleo de soja e apresentou 95% de MS, 86% de glicerol, 6% sais e 0,01% de metanol, fornecida pela Empresa Caramuru Alimentos Ltda.

As vacas receberam as dietas contendo três teores de GB: G0 - ausência de GB; G15 - inclusão de 15 % de GB na MS da dieta e G30 - inclusão de 30 % de GB na MS da dieta (Tabela 2). As dietas foram fornecidas duas vezes ao dia, às 7 e às 16 horas, na forma de dieta completa, logo após as ordenha. Diariamente, as vacas foram ordenhadas duas vezes ao dia, às 6 e às 15 horas, em sistema de ordenha mecanizada. O controle leiteiro diário foi iniciado após o parto e se estendeu por todo o período experimental.

Tabela 1. Composição bromatológica dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais.

Ingredientes	% MS	PB	PDR ¹	FDN	EE	CNF	AMIDO ¹
		% MS					
Silagem de milho	30,9	7,2	70,0	55,4	3,1	34,4	23,3
Milho grão	87,9	9,1	60,0	13,9	4,9	57,2	64,6
Farelo de girassol ²	91,9	31,5	90,0	40,3	1,4	16,3	2,35
Glúten de milho ³	86,4	65,0	40,0	11,1	3,5	2,0	38,0
Uréia	98,0	281	100,0	-	-	-	-
Glicerina Bruta ²	95,0	-	-	-	-	-	-
Vitaminas e minerais ⁴	99,0	-	-	-	-	-	-

¹NRC (2001);²Caramuru Alimentos Ltda.; ³Corns Products do Brasil; Matéria seca (MS); Proteína Bruta (PB); Proteína degradável no rúmen (PDR) como %PB; Fbra em detergente neutro (FDN); Carboidratos não fibrosos (CNF); Extrato etéreo (EE);⁴Produto comercial, contendo níveis de garantia: Vit. A 200.000 UI, Vit. D₃ 60.000 UI, Vit. E 60 UI, Ca 230 g, P 90 g, S 15 g, Mg 20 g, Cu 700 mg, Zn 2700 mg, Mn 1250 mg, Co 100 mg, I 80 mg, Se 20 mg, Fe 2 g, F 0,90 mg; – veículo. 1000 g;

Tabela 2. Participação dos ingredientes e composição bromatológica dos nutrientes e % da MS de dietas fornecidas contendo teores crescentes de glicerina bruta.

Ingredientes	Tratamentos ¹		
	G0	G15	G30
Participação dos ingredientes nas dietas, % MS			
Silagem de milho	45,0	45,0	45,0
Milho grão moído	36,5	19,3	2,8
Farelo de girassol	10,7	11,4	11,3
Glúten de milho	5,1	6,6	8,1
Uréia	0,5	0,5	0,6
Glicerina	0,0	15,0	30,0
Vitaminas e minerais ²	1,7	1,7	1,7
Composição bromatológica das dietas, % MS			
Nutrientes			
PB	14,4	14,3	14,1
FDN	34,8	33,3	31,5
EE	3,2	2,8	2,4
CNF	45,0	49,0	51,0

¹G0 = tratamento controle - ausência de glicerina; G15 = adição de 15% de glicerina na MS da dieta; G30 = adição de 30% de glicerina na MS da dieta; ^{MS} matéria seca, ^{FDN} fibra em detergente neutro, ^{FDA} fibra em detergente ácido; ^{CNF} carboidratos não fibrosos, ^{EE} extrato etéreo.²Produto comercial, contendo níveis de garantia: Vit. A 200.000 UI, Vit. D₃ 60.000 UI, Vit. E 60 UI, Ca 230 g, P 90 g, S 15 g, Mg 20 g, Cu 700 mg, Zn 2700 mg, Mn 1250 mg, Co 100 mg, I 80 mg, Se 20 mg, Fe 2 g, F 0,90 mg; – veículo. 1000 g;

No 14º dia de cada período foi avaliada a atividade mastigatória por observação visual da atividade bucal de cada animal a cada cinco minutos por 24 horas contínuas.

Foram consideradas as atividades de ingestão e ruminação. Por meio da soma dos tempos de ingestão e ruminação obteve-se o tempo de mastigação. Foram calculadas as atividades mastigatórias por unidade de consumo de MS.

No 15º dia de cada período experimental ocorreu a incubação *in situ* dos alimentos. Para avaliação da degradabilidade ruminal foi utilizada a técnica de degradação ruminal *in situ* (ØRSKOV & McDONALD, 1979), usando sacos de poliéster 100% poliamida, com poros de 50 micrômetros, com área disponível correspondendo a 14,0 x 7,0 cm, contendo aproximadamente 5 g de MS, de forma a obter mínimo de 20 mg de MS/cm². A silagem foi moída em peneira com perfurações de 5 mm de diâmetro e os demais ingredientes a 2 mm. Utilizou-se dos seguintes tempos de permanência no rúmen: silagem de milho: 6, 12, 24, 48, 72, 96 e 120 horas; milho: 3, 6, 12, 24 e 48 horas; farelo de girassol: 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96 e 120 horas e para o glúten de milho: 3; 6; 12; 24; 48 e 72 horas. Os sacos de náilon foram inseridos às 8 horas no rúmen, em ordem inversa de tempo, presos a uma corrente de metal. Após o período de incubação, todos os sacos foram retirados e imersos em água gelada por 30 minutos para interrupção da atividade microbiana e, em seguida, foram lavados em água corrente. Após esta etapa, os sacos contendo os resíduos da incubação foram mantidos em estufa de circulação e renovação de ar à temperatura de 55 °C por 72 horas. As frações solúveis foram determinadas lavando-se os sacos, em água, com as amostras separadamente, sem prévia incubação. Os resíduos foram retirados, pesados e reservados para posteriores análises.

Para avaliação da degradação potencial das variáveis foi utilizado o modelo proposto por ØRSKOV & McDONALD (1979); $p = a + b(1 - e^{-kdt})$, onde, p = degradação potencial do componente nutritivo, em porcentagem; a variável a = fração solúvel, em porcentagem; b é a fração insolúvel potencialmente degradável, em porcentagem; a + b = potencial de digestão do componente nutritivo; kd = taxa de digestão por ação fermentativa, em porcentagem por hora; e t = tempo de incubação, em horas.

Para determinação da degradabilidade efetiva foi utilizada a expressão: $P = a + b[k_d/(k_d + k_p)]^{-1}$, onde, P = degradabilidade efetiva, em porcentagem; k_p = taxa de passagem (2, 5 e 8%/h) das frações nutritivas e, a, b e k as mesmas constantes da

equação anteriormente descrita (McDONALD, 1981). Os resíduos da incubação, as amostras de ingredientes e das sobras foram submetidas às análises bromatológicas para determinação da porcentagem de MS, PB, EE, FDN, e MM de acordo com SILVA & QUEIROZ (2005).

A determinação da taxa de passagem de sólidos e líquidos foi realizada por meio da utilização dos indicadores Dicromato de Potássio e Co-EDTA, respectivamente, de acordo com UDÉN et al. (1980). Os cálculos das taxas de passagem foram calculados utilizando os dados de desaparecimento ruminal dos indicadores em função do tempo, obtendo-se, então, a taxa de diluição ou de passagem.

Os coeficientes de digestibilidade da MS, DMO, DEE, DPB e DFDN foram determinados por meio do uso da fibra em FDN indigestível (FDNi) como indicador interno, a partir da incubação *in situ* dos alimentos, das sobras e das fezes durante 240 horas segundo a técnica descrita por CASALI et al., (2008). As amostras fecais foram colhidas duas vezes ao dia, do 17º ao 19º dia do período experimental, no 18º dia às 8 e às 14 horas, havendo um incremento de uma hora das coletas de um dia para o outro, perfazendo um total de seis amostragens/animal/período. As dietas foram fornecidas para que as sobras não ultrapassem 5% do oferecido. Amostras das sobras foram colhidas do 16º ao 18º dia do período experimental, totalizando três amostras/animal/período. Os alimentos foram amostrados no início de cada período. Posteriormente, as amostras foram secas em estufas de circulação forçada de ar em temperatura de 55 °C por 72 horas, moídas individualmente em moinhos de faca utilizando-se peneiras com crivo de 2 mm e misturadas, com base no peso seco, para formar amostras compostas de fezes e sobras. As amostras de fezes, sobras e alimentos foram analisados como já descrito no ensaio de degradabilidade.

A produção da massa microbiana foi determinada para cada tratamento. Foram realizadas quatro colheitas de conteúdo ruminal de cada animal, nos seguintes horários: uma hora antes da alimentação (Tempo 0), 4 horas após a alimentação (Tempo 4), 9 horas após a alimentação (Tempo 9) e 13 horas após a alimentação (Tempo 13). As colheitas foram realizadas procurando amostrar toda a parte ventral do rúmen. As amostras de conteúdo ruminal foram filtradas em filtro de náilon com porosidade de 100

µm para separar a fase líquida da fase sólida, congeladas e analisadas. Posteriormente, foi quantificada a massa microbiana através da determinação, nas diferentes fases, das bactérias sólido-aderidas (BSA), bactérias líquido-associadas (BLA) e protozoários líquido-associados (PLA), de acordo com a técnica proposta por MARTIN et al. (1994) e adaptada por EZEQUIEL et al. (2002).

Nos horários de 0, 1, 2, 4, 6, 9, 12, 15, 18, 21 e 24 horas após a 1ª alimentação do dia foram obtidos os valores de pH e determinada as concentrações ruminais de amônia segundo descrito em VIEIRA (1980).

A avaliação da produção de gases totais, dióxido de carbono (CO₂) e metano (CH₄) das dietas foram realizada por meio da incubação *in vitro*, conforme GASTALDI (2003). Após medição do gás total produzido, uma alíquota foi injetada 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 a temperatura do forno foi de 70°C. A calibração foi realizada com uma mistura padrão de gases metano e carbônico. As áreas dos picos foram integradas utilizando o software Chromquest 5.0. Antes da alimentação, foram colhidos os líquidos ruminais, misturados e depois colocados nos fermentadores, na relação de 1,25 g de MS/100mL de líquido ruminal e incubados a 39 °C durante 12 horas, em ambiente escuro. As colheitas do líquido ruminal foram realizadas no 21º dia do período experimental, sempre ao final do dia, por volta das 19 horas e após 5 horas da última refeição do dia.

Foram testadas as pressuposições básicas das análises, normalidade dos erros e homogeneidade das variâncias por meio do programa SAS (versão 9.1, SAS institute, Cary, NC, USA). Para as variáveis de desempenho (consumo e produção de leite), atividade mastigatória, digestibilidade, cinética de degradação e passagem e, produção de gases realizou-se a Análise de Variância utilizando o modelo quadrado latino (QL), vaca dentro de QL, período dentro de QL, tratamentos e interação do QL com os tratamentos.

Para as variáveis ruminais, que tiveram mensurações no tempo (pH, amônia e produção de massa microbiana), foi realizada análise de medidas repetidas no tempo, inicialmente pelo teste de esfericidade das matrizes de tempo, sendo a parcela principal

os teores de glicerina e as sub-parcelas os tempos de colheita. Foram considerados significativos os valores de probabilidades de 0,05 e entre 0,05 e 0,15 como tendência. Os ajustes polinomiais foram testados quando obtidos valores de probabilidade para efeito de tratamento menor que 0,10.

Utilizou-se ainda, da técnica de análise multivariada de dados por meio da análise de componentes principais para conhecer as inter-relações existentes entre as variáveis (PL, consumos de MS, MO, FDN e EE; tempo gasto com ingestão e ruminação e, digestibilidade da MS, EE e da FDN) e os tratamentos.

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A resposta das vacas em produção de leite apresentou tendência de redução ($P=0,10$) quando a GB foi incluída em mais de 15% da MS da dieta (Tabela 3). A PL foi reduzida em 15,5% e em 22,0% nos tratamentos com 15% e 30% de inclusão de GB em relação ao controle. O efeito depressor na produção de leite já foi identificado em estudos semelhantes em que utilizaram a GB (85% de glicerol) em dietas com silagem de milho (VITO; ZACARONI, 2010).

De maneira semelhante, as diferenças nos consumos de MS e de MO expressos em kg/dia (Tabela 3) não apresentaram significância ($P=0,55$) segundo a análise de variância, mas, obtiveram tendência ($P=0,08$) linear de redução com a inclusão da GB. A consequência direta disso foi a redução linear ($P<0,05$) nos consumos de PB e FDN nas dietas com maior participação da GB. O efeito depressor no consumo de MS já foi reportado em estudos com glicerina purificada (RICO et al.; BOYD, 2009) e com GB (VITO; ZACARONI, 2010). O menor consumo de nutrientes explica parte da redução na produção de leite.

Ratificando os resultados do consumo de MS, a avaliação da atividade mastigatória das vacas apresentou efeito linear ($P=0,03$) para redução no tempo gasto com ingestão, em min/dia quando a GB foi incluída na dieta (Tabela 4), corroborando com a ausência de efeito ($P=0,32$) nos tempos gastos com a ingestão por unidade de

MS consumida (minutos/kg). O efeito depressor da GB na dieta afetou os tempos gastos com ruminação ($P=0,02$) e tempo total de mastigação ($P=0,01$), denotando ainda efeito linear para ambos ($P<0,05$). Resultados semelhantes na redução do tempo gasto com ingestão de MS foram obtidos por ZACARONI (2010), embora, de maneira contrária a este estudo, tenha observado aumento no consumo de MS por unidade de tempo e ausência de efeito no tempo de ruminação.

Tabela 3. Produção de leite, consumo de matéria seca e dos demais nutrientes em vacas recebendo teores crescentes de glicerina bruta na dieta.

Variáveis, Kg/dia	Dietas			EPM	CV%	P trat	P Linear
	G0	G15	G30				
Leite	19,8	16,7	15,4	0,4	8,9	0,108	0,235
Consumo							
MS	17,0	16,8	15,8	0,4	9,7	0,556	0,088
MO	16,0	16,0	14,9	0,1	9,6	0,591	0,104
PB	2,9	2,9	2,7	0,1	12,2	0,777	0,032
EE	1,0	1,3	1,1	0,2	52,3	0,794	0,399
FDN	6,6	6,5	5,4	0,3	16,6	0,351	0,006
FDN forragem	4,2	4,2	3,9	0,1	9,6	0,546	0,086
CNF	5,6	5,5	5,8	0,5	34,9	0,974	0,710
NDT	10,8	11,1	11,1	0,3	9,6	0,939	0,440

G0= ausência de glicerina bruta na MS da dieta, G15= inclusão de 15% de glicerina bruta na MS da dieta; G30= inclusão de 330% de glicerina bruta na MS da dieta.

CNF = $100 - (PB + FDN_{cp} + EE + \text{Matéria mineral})$

A pureza da glicerina tem sido sugerida como um fator determinante em seu uso como macro ingrediente, particularmente, por causa de seu efeito depressor no consumo (CHUNG et al., 2007; SCHRÖDER & SÜDEKUM, 1999). DONKIN et al. (2009) verificaram redução no consumo de alimentos apenas nas primeiras semanas de fornecimento de dietas contendo 15% de glicerina purificada. Os autores observaram que após um maior período de consumo da glicerina, ocorreu adaptação ruminal e o consumo retornou a normalidade.

Efeito positivo sobre a digestibilidade da MS e MO das dietas foi observado em alguns estudos contendo a GB (VITO; ZACARONI, 2010) e com a glicerina purificada (DONKIN et al., 2009), sendo observado no presente trabalho apenas como tendência fraca ($P=0,15$) (Tabela 5).

Tabela 4. Tempos despendidos com atividade mastigatória de vacas recebendo teores crescentes de glicerina bruta na dieta.

Variáveis	Dietas			EPM	CV%	P trat	P Linear
	G0	G15	G30				
min/dia							
Ingestão	263,3	219,2	184,2	10,3	17,7	0,228	0,035
Ruminação	424,2	282,8	197,8	11,3	13,5	0,024	0,026
Mastigação	687,5	501,9	381,9	11,6	8,1	0,012	0,004
Min/ kg MS consumida							
Ingestão	15,3	13,0	11,9	0,5	15,0	0,323	0,294
Ruminação	25,0	16,8	13,3	1,1	21,6	0,124	0,253
Mastigação	40,4	29,8	25,3	1,2	13,7	0,080	0,185

G0= ausência de glicerina bruta na MS da dieta, G15= inclusão de 15% de glicerina bruta na MS da dieta; G30= inclusão de 30% de glicerina bruta na MS da dieta.

Tabela 5. Coeficientes de digestibilidade da matéria seca (DMS), MO, PB, FDN, EE, CNF e matéria orgânica descontada a FDN (DMOnFDN) de dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta.

Variáveis	% Glicerina Bruta			EPM	CV%	P trat	P Linear
	0	15	30				
DMS	62,7	63,0	68,3	1,4	8,4	0,423	0,154
DMO	63,5	63,9	69,3	1,5	8,7	0,424	0,140
DPB	65,5	65,9	70,0	1,0	5,8	0,373	0,570
DFDN	47,7	44,7	46,7	1,6	14,0	0,811	0,045
DEE	56,0	62,5	53,1	4,7	33,9	0,755	0,134
DCNF	73,7	83,2	88,7	3,7	17,2	0,571	0,029
DMOnFDN	71,3	75,3	79,9	2,2	11,1	0,564	0,040

G0= ausência de glicerina bruta na dieta, G15= inclusão de 15% de glicerina bruta na matéria seca da dieta; G30= inclusão de 15% de glicerina bruta na matéria seca da dieta.

CNF = 100 – (PB+FDNcp+EE+Matéria mineral), NRC (2001).

A redução na digestibilidade da FDN obtida neste trabalho ($P=0,04$) também foi percebida por DONKIN et al. (2009) como tendência ($P=0,07$) e por VITO (2010) como tendência fraca ($P=0,15$) e não o foi por ZACARONI (2010). Este efeito depressor na digestibilidade da fração fibrosa da dieta já fora observado, quando a presença do glicerol em culturas de bactérias, inibiu a atividade celulolítica *in vitro* de *Ruminococcus flavenfaciens* e *Fibrobacter succinogenes* sem, contudo, afetar a aderência das bactérias à celulose (ROGER et al., 1992). ABUGHAZALEH et al. (2010) avaliaram o

efeito da substituição de milho por glicerol em 15, 30 e 45% e observaram redução digestibilidade da FDN nos tratamentos contendo substituição de 30 e 45% de glicerol, equivalentes a 7 e 11% de inclusão de GB.

A análise multivariada de componentes principais foi utilizada como um complemento das análises estatísticas realizadas, objetivando redimensionar o espaço das informações originais em um novo espaço, formado por três variáveis latentes denominadas de componentes principais (CP1, CP2 e CP3), criadas por combinações lineares das variáveis originais na região que deteve a maior concentração da variância original (Tabela 6).

Tabela 6. Correlação entre variáveis de produção de leite, consumo e digestibilidade e, os três componentes principais obtidos as dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta.

Variáveis	CP1	CP2	CP3
Produção de leite (PL, kg/d)	- 0,397	0,725*	0,120
Consumo de MS (CMS, kg/d)	- 0,710*	0,482	- 0,389
Consumo de PB (CPB, kg/d)	- 0,790*	0,287	- 0,332
Consumo de FDN (CFDN, kg/d)	- 0,976*	0,030	0,051
Consumo de EE (CEE, kg/d)	- 0,787*	- 0,320	- 0,270
Tempo comendo (mC, min/d)	- 0,440	0,724*	0,268
Tempo mastigando (mM, min/d)	- 0,304	0,454	0,716*
Digestibilidade da MS (DMS, %)	0,487	0,364	- 0,689*
Digestibilidade da FDN (DFDN, %)	- 0,595*	- 0,578	- 0,080
Digestibilidade do EE (DEE, %)	- 0,756*	- 0,298	- 0,225
Digestibilidade dos CNF (DCNF, %)	0,502	0,686*	- 0,400
% variância acumulada	41,5	66,1	80,9

Correlações precedidas com * (>0,50 em valor absoluto) foram consideradas na interpretação dos componentes principais.

Estas duas novas variáveis colocadas ortogonalmente geraram uma distribuição bidimensional das amostras, onde buscou-se relacionar as respostas das vacas às dietas com glicerina bruta sobre a produção de leite, consumo, atividade mastigatória e digestibilidade dos nutrientes das dietas (Figura 1 – A e B).

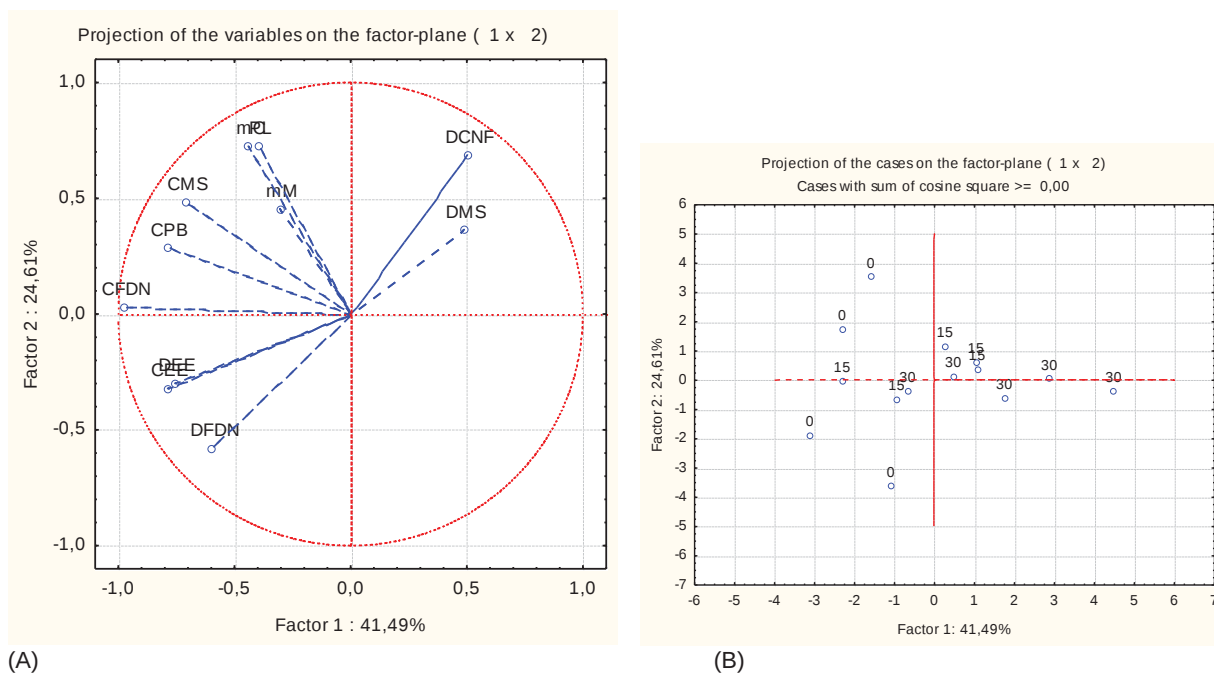


Figura 1. Gráfico biplot obtido da análise de componentes principais mostrando a distribuição das variáveis¹ (A) e dos tratamentos (B).

¹ Variáveis: digestibilidade da matéria seca (DMS), digestibilidade dos carboidratos não fibrosos (DCNF), minutos gastos com ingestão de MS, digestibilidade da proteína bruta (DPB), consumo de matéria seca (CMS), consumo de FDN (CFDN), produção de leite (PL), minutos gastos com mastigação (mM), digestibilidade do extrato etéreo (DEE), consumo de EE (CEE), consumo de FDN (DFDN), digestibilidade da FDN (DFDN).

A distribuição bidimensional reteve 66,1% da informação original (CP1 =41,5% e CP2 = 24,6%). A direita de CP1 (Figura 1B) observa-se a concentração das respostas com 30% de GB; no centro do gráfico, as dietas com 15% GB e a esquerda de CP1 e abaixo e acima de CP2 a presença dos tratamentos controle.

O primeiro componente principal (CP1) apresenta correlações elevadas e negativas principalmente com as variáveis relacionadas ao consumo e à digestibilidade da FDN e EE. São elas: CFDN, CPB, CEE, digestibilidade de FDN e do EE, explicando 41,5% da variação total da análise. O segundo componente principal (CP2) explicou 24,6% da variação total da análise e foi positivamente correlacionado com tempo gasto com ingestão de alimentos, produção de leite e digestibilidade dos CNF. O que deixa mais evidente a relação positiva do maior consumo, digestibilidade dos CNF e o conseqüente aumento da produção de leite.

O terceiro componente mais importante (CP3) explicou 14,8% da variação total da análise e mostrou a relação inversa entre o tempo gasto com mastigação (consumo + ruminação) e a digestibilidade da MS. O que confirma os resultados numéricos, mas sem suporte estatístico, obtido com a redução no tempo com mastigação e aumento na DMS das dietas que tiveram a inclusão da GB.

As vacas alimentadas com GB não apresentaram diferença nos valores de pH com 12 horas após a primeira alimentação (5,38; 5,62 e 5,79 respectivamente para G0, G15 e G30). O que foi observado em outros estudos (BOYD et al.; SHIN et al., 2009; ZACARONI; ABO EL-NOR, 2010). Contudo a variação do pH ao longo do dia apresentou-se com valores menores na dieta controle (G0), rica em amido (Figura 2). O que fortalece a idéia de que houve menor fermentação nas dietas com GB e, portanto, menor produção e acúmulo de AGV no rúmen.

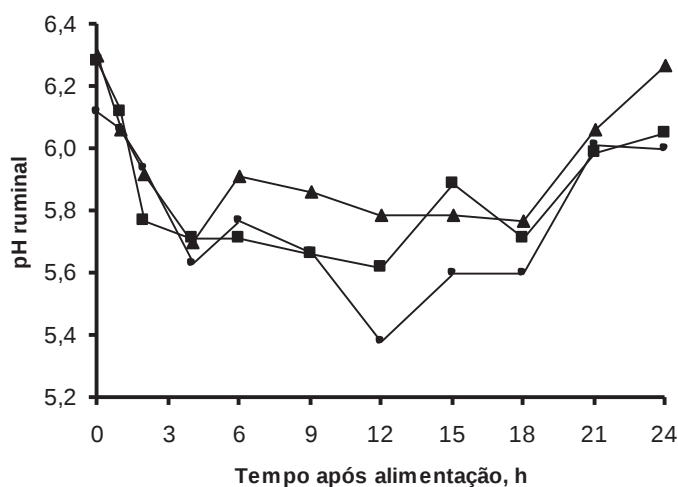


Figura 2. Variação do pH ruminal ao longo de 24h após a alimentação e em função dos tratamentos: (●) ausência de glicerina, (■) inclusão de 15% de glicerina na matéria seca da dieta e (▲) inclusão de 30% de glicerina na matéria seca da dieta.

A substituição do amido do milho pelo glicerol oriundo da GB ao nível de inclusão de 15% na MS das dietas reduziu ($P<0,01$) a concentração de amônia no rúmen quando mensurada após 12 horas da primeira alimentação do dia (44,0; 28,5 e 28,63

mg/dL, respectivamente para G0, G15 e G30) (Figura 3). Alguns trabalhos obtiveram o mesmo efeito da redução nas concentrações de amônia ruminal quando glicerina foi adicionada às dietas (BOYD et al., 2009; ABO EL-NOR et al., 2010; LEE et al., 2011).

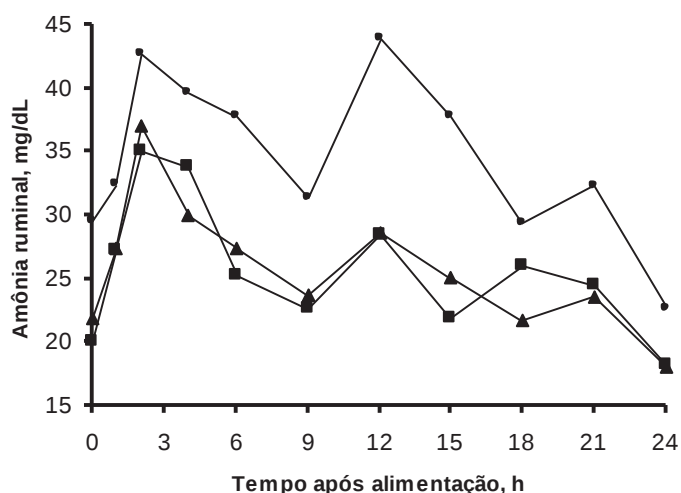


Figura 3. Variação nas concentrações de amônia ruminal (mg/dL) ao longo de 24h após a alimentação e em função dos tratamentos: (●) ausência de glicerina, (■) inclusão de 15% de glicerina na matéria seca da dieta e (▲) inclusão de 30% de glicerina na matéria seca da dieta.

Sabe-se que amônia ruminal é proveniente do nitrogênio não-protéico da dieta, da degradação da proteína verdadeira dietética e da reciclagem via saliva ou difusão pela parede ruminal. Reduções na síntese microbiana, normalmente, comprometem o desempenho animal. O que pode ocorrer devido à redução na fermentação ruminal, com efeitos negativos no consumo de alimentos e, portanto, na disponibilidade da energia para o animal, como também pela redução na quantidade e/ou qualidade da proteína metabolizável no nível de intestino (RUSSEL,1992). Isto parece estar coerente com os resultados obtidos no presente estudo, devido redução significativa ($P<0,01$) detectada apenas para as produções de BLA e, numericamente e sem suporte estatístico ($P>0,40$) para os PLA e BSA quando a GB foi utilizada nas dietas (Tabela 7).

Tabela 7. Produção da massa microbiana ruminal em função da participação da glicerina bruta na dieta.

Massa microbiana	Dietas			EPM	CV%	P trat	P Trat*Tmp
	G0	G15	G30				
PLA, gMO/LLR	0,87	0,75	0,76	0,029	27,5	0,323	Ns
BLA, gMO/LLR	1,20	0,93	0,85	0,032	24,9	0,046	Ns
BSA, gMO/kgCR	5,16	4,27	4,52	0,300	52,2	0,659	Ns

G0= ausência de glicerina bruta na MS da dieta, G15= inclusão de 15% de glicerina bruta na MS da dieta; G30= inclusão de 30% de glicerina bruta na MS da dieta PLA=Protozoários líquido-associados e BLA=Bactérias líquida-associadas em gramas de Matéria orgânica/ litro de líquido ruminal (gMO/LLR) e, BSA=Bactérias sólido-aderidas em gMO/kg de conteúdo ruminal (gMO/kgCR).

Reduções na produção e eficiência de síntese de proteína microbiana foram notadas (VITO; ZACARONI, 2010) quando a GB foi utilizada acima de 12% da MS da dieta contendo silagem de milho como forragem exclusiva. Não por coincidência, nos mesmos trabalhos ocorreu redução na produção de leite. Segundo Russel (1992), a proteína microbiana é normalmente a principal fonte de proteína metabolizável – de 45 a 55% a nível de intestino de vacas leiteiras de alta produção.

Os parâmetros da cinética da digestão dos ingredientes das dietas não foram influenciados pela inclusão da GB até 30% da MS da dieta (Tabela 8). Embora, SCHRÖDER & SÜDEKUM (1999) tenham relatado ausência de efeito sobre a degradação de nutrientes e microbiota ruminal quando utilizaram 10% de glicerina na MS da dieta. Da mesma forma, SANTOS et al (2011) utilizando inóculo de rúmen de ovinos alimentados com 25, 50, 75 e 100% de GB em substituição ao milho não observaram efeito algum sobre a digestibilidade *in vitro* da MO. Por outro lado, DUQUE et al. (2011) verificaram uma tendência ($P=0,07$) de efeito linear negativo sobre as taxas de degradação da MS ($P=0,03$), MO ($P=0,04$) e sobre as DEF da MS, MO ($P=0,09$) e FDN ($P=0,08$) da silagem de milho quando incluíram GB em 0, 3, 6 e 9% nas dietas.

De acordo com ABUGHAZALEH et al. (2010) a inclusão de glicerina pura (99,5%) em 7,2 e 10,8% na MS das dietas deprimiu a DFDN e as concentrações de DNA de *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Selenomonas ruminantium* e *Clostridium proteoclasticum*. Este efeito também foi evidenciado por ABO EL-NOR et al. (2010).

Tabela 8. Parâmetros de degradabilidade ruminal efetiva (DEF) e degradabilidade com 24h de incubação (DEG24h) da matéria seca dos ingredientes concentrados (farelo de girassol, glúten de milho e milho) e da silagem de milho segundo os tratamentos.

Dietas	Frações, %			Kd %/h	DEF			DEG 24h
	A	B	C		2%/h	5%/h	8%/h	
Farelo de Girassol								
G0	35,7	33,9	30,3	8,49	63,2	57,1	53,3	64,6
G15	37,3	32,5	30,3	8,18	63,2	57,3	53,6	64,3
G30	36,0	33,2	30,8	7,24	61,9	55,6	51,7	62,5
Glutenose de Milho								
G0	15,0	49,3	35,73	1,27	33,4	24,6	21,6	35,3
G15	17,8	42,8	39,4	2,70	40,2	31,7	28,1	43,0
G30	17,7	44,6	37,7	2,04	36,7	28,7	25,6	39,4
Milho grão								
G0	17,2	75,2	7,6	6,13	72,6	57,4	48,9	79,4
G15	15,5	76,3	8,3	5,47	69,2	53,4	44,9	77,1
G30	18,0	73,0	9,0	3,36	63,0	46,9	39,3	71,9
Silagem de Milho								
G0	38,0	37,4	24,6	4,62	63,9	55,8	51,6	66,7
G15	38,9	36,6	24,4	4,12	63,0	55,1	51,1	66,2
G30	35,9	39,8	24,2	3,93	61,9	53,1	48,8	64,5

A= fração solúvel; B= fração insolúvel potencialmente degradável; C= fração indigestível; kd= taxa fracional de degradação; DEF=A+B[kd/(kd+kp)] em função das taxas de passagem: 2, 5 e 8%/h; DEG24h= degradabilidade da matéria seca com 24h de incubação.

G0= ausência de glicerina bruta na MS da dieta, G15= inclusão de 15% de glicerina bruta na MS da dieta; G30= inclusão de 30% de glicerina bruta na MS da dieta.

Os parâmetros de passagem de sólidos (Tabela 9) dos ingredientes das dietas e da cinética de passagem da fase líquida (Tabela 10) não foram influenciados pela inclusão do glicerol nas dietas.

Tabela 9. Parâmetros de cinética de passagem da fase sólida (taxa de fluxo total, do concentrado e da foragem em %/hora de dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta.

Variáveis	Dietas			EPM	CV%	P trat
	G0	G15	G30			
Taxa de fluxo total	10,7	10,8	9,90	0,42	17,0	0,636
Taxa de fluxo do concentrado	5,7	6,5	7,7	0,48	30,7	0,300
Taxa de fluxo da silagem	2,7	2,7	2,3	0,15	25,7	0,43

G0= ausência de glicerina bruta na dieta, G15= inclusão de 15% de glicerina bruta na matéria seca da dieta; G30= inclusão de 15% de glicerina bruta na matéria seca da dieta.

Tabela 10. Parâmetros de cinética de passagem da fase líquida (taxa de diluição, %/h; volume ruminal, L; tempo de reciclagem, horas; taxa de reciclagem, nº de vezes/24 horas; e taxa de fluxo, L/horas) de dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta.

Dietas	Variáveis	Valor Médio	Menor valor	Maior valor
G0	Taxa de Diluição, %/ horas	10,1	7,9	12,4
G15		11,5	9,3	13,1
G30		10,0	6,0	12,7
G0	Volume Ruminal, L	79,3	67,4	89,6
G15		73,4	61,2	89,7
G30		85,7	63,9	100,8
G0	Tempo de Reciclagem, horas	10,1	8,1	12,7
G15		8,9	7,6	10,8
G30		10,7	7,9	16,6
G0	Taxa de Reciclagem, n/ 24 horas	2,4	1,9	3,0
G15		2,8	2,2	3,1
G30		2,4	1,5	3,1
G0	Taxa de Fluxo, L/ horas	8,1	5,3	11,1
G15		8,4	5,7	11,1
G30		8,7	4,8	11,9

G0= ausência de glicerina bruta na dieta, G15= inclusão de 15% de glicerina bruta na matéria seca da dieta; G30= inclusão de 15% de glicerina bruta na matéria seca da dieta.

RÉMOND et al. (1993) verificaram em fermentadores contendo amido como substrato, o desaparecimento de glicerol ocorreu rapidamente, enquanto o uso de celulose como substrato retardou o desaparecimento para 4 a 6 horas após o início da fermentação. A taxa de desaparecimento do glicerol foi 0,62 g/hora quando amido foi o substrato fermentativo e 0,52 g/hora quando o substrato foi celulose. O aumento na quantidade infundida de glicerol aumentou a sua velocidade de desaparecimento ruminal. Para KREHBIEL (2008) isto ocorre em animais previamente adaptados a este substrato. KIJORA et al. (1998) relataram que o desaparecimento ruminal do glicerol infundido ocorreu em duas horas.

A produção de gases *in vitro* nas dietas com inclusão da GB (Tabela 11) foi afetada pela GB. Foi observado aumento linear no volume e na concentração do gás CH₄ em comparação ao CO₂. Concordando com SANTOS et al. (2011) que observaram

um efeito quadrático promovido pela adição da GB em substituição ao milho até o nível de 50% quando esta promoveu aumento na produção de gases, havendo redução a partir de 75% de substituição, porém níveis acima de 75% promoveram aumento na produção de metano.

Tabela 11. Produção de gases de dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta.

Variáveis	% Glicerina bruta			EPM	CV%	P trat
	0	15	30			
Gases, mL						
CH ₄	9,1	7,6	14,1	0,65	26,2	0,03
CO ₂	37,9	28,8	35,2	1,60	20,4	0,17
Total de gases	53,2	42,2	44,6	2,43	21,9	0,26
Gases, mL/g de MS						
CH ₄	4,8	4,0	7,5	0,34	26,2	0,03
CO ₂	20,3	15,4	18,8	0,86	20,2	0,17
Total de gases	28,4	22,5	23,9	1,29	21,9	0,27
Relação CO ₂ /CH ₄	4,3	4,5	2,9	0,33	37,8	0,19

G0= ausência de glicerina bruta na MS da dieta, G15= inclusão de 15% de glicerina bruta na MS da dieta; G30= inclusão de 30% de glicerina bruta na MS da dieta.

V. CONCLUSÕES

A utilização de glicerina bruta (86% de glicerol) em 15% da matéria seca da dieta de vacas em lactação deprime produção de bactérias de fase líquida, digestibilidade da fibra e desempenho. A sua inclusão em até 10% parece ser o limite ótimo. Ainda assim, mais investigações precisam ser feitas com relação ao desempenho de vacas leiteiras variando o grau de impurezas da glicerina bruta e o nível de inclusão.

VI. 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. **Brazilian Journal of Animal Science**, Viçosa, v. 37, p. 260-268, 2008.

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

ABUGHAZALEH, A. A.; ABO EL-NOR, S.; IBRAHIM, S. A. The effect of replacing corn with glycerol on ruminal bacteria in continuous culture fermenters. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, local, v. 95, p. 313-319, 2010.

ANP (AGENCIA NACIONAL DO PETROLEO, GAS NATURAL E BIOCOMBUSTIVEIS). **Anuário estatístico brasileiro do petróleo, gás natural e biocombustíveis 2011: biodiesel**. Brasília, 2011. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/?pg=17680&m=&t1=&t2=&t3=&t4=&ar=&ps=&cachebust=1266757031500>>. Acesso em: 18 jun. 2011.

AVILA, J. S.; CHAVESA, A. V.; HERNANDEZ-CALVA, M.; BEAUCHEMIN, K. A.; MCGINN, S. M.; WANG, S.; 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**, Amsterdam, v. 166, p. 166-167, 2011.

AZEVEDO, J. A. G.; PEREIRA, J. C.; CARNEIRO, P. C. S.; QUEIROZ, A. C.; BARBOSA, M. H. P.; FERNADES, A. M.; RENNÓ, F. P. Avaliação da divergência nutricional de variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 6, p. 1431-1442, 2003.

BOYD, J.; WEST, J. W.; BERNARD, J. K. Effects of increasing concentrations of dietary glycerol on ruminal environment and digestibility in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 1, p. 88, 2009. Abstract.

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**, Viçosa, v. 37, n. 2, p. 335-342, 2008.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A. **Biochemistry**: Lippincott's illustrated reviews. 2. ed. New Jersey: J. B. Lippincot Company, 1994. 446 p.

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

CZERKAWSKI, J. W.; BRECKENRIDGE, G. Fermentation of various glycolytic intermediates and other compounds by rumen micro-organisms, with particular reference to methane production. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 27, p. 131-146, 1972.

DASARI, M. Crude glycerol potential described: while glycerol can be an attractive alternative energy source for animal feed, it has its own limitations in terms of lower energy content than oils and fats, impurities and possible effects on the metabolic activity of the animals. **Feedstuffs**, Minnesota, v. 79, n. 43, p.1-3, 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**, Champaign, v. 87, p. 4195-4206, 2004.

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

DONKIN, S. S.; KOSER, S. L.; WHITE, H. M.; DOANE, P. H.; CECAVA, M. J. Feeding value of glycerol as a replacement for corn grain in rations fed to lactating dairy cow. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 10, p. 5111-5119, 2009.

DRACKLEY, J. K. Opportunities for glycerol use in dairy diets. In: STATE DAIRY NUTRITION AND MANAGEMENT CONFERENCE, 4., 2008, Dubuque. **Proceedings...** Dubuque: SDN, 2008. 1 CD-ROM.

DRACKLEY, J. K.; RICHARD, M. J.; BEITZ, D.C, YOUNG J. W. Metabolic changes in dairy cows with ketonemia in response to feed restriction and dietary 1,3-butanediol. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, p. 1622-1634, 1992.

DUQUE, A. C. A.; DE MARTIN, M. M.; OLIVEIRA E SILVA, J.; LOPES, R. P. X.; LOPES, F. C. F.; FERNANDES, V. C. Degradabilidade ruminal da silagem de milho em vacas em lactação recebendo concentrados com diferentes níveis de glicerina bruta oriunda da produção de biodiesel. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA: o desenvolvimento da produção animal e a responsabilidade frente a novos desafios, 48., 2011, **Anais...** Belém.

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

FAO (Food and Agriculture Organization). **A review of the current state of bioenergy development in G8 + 5 countries, 2007.** Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/010/a1348e/a1348e00.htm>>. Acesso em: 6 Jun. 2010.

FERRARO, S. M.; MENDOZA, G. D.; MIRANDA, L. A.; GUTIERREZ, C. G. *In vitro* gas production and ruminal fermentation of glycerol, propylene glycol and molasses. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 154, p. 112-118, 2009.

FISHER, L. J.; ERFLE, J. D.; LODGE, G. A.; SAUER, F. D. Preliminary evaluation of the addition of glucogenic materials to the rations of lactating cows. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 51, p. 721-727, 1971.

FISHER, L. J.; ERFLE, J. D.; LODGE, G. A.; SAUER, F. D. Effects of propylene glycol 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**, Ottawa, v. 53, p. 289-296, 1973.

GARTON, G. A.; LOUGH, A. K.; VIOQUE, E. Glyceride hydrolysis and glycerol fermentation by sheep rumen contents. **Journal of General Microbiology**, London, v. 25, p. 215-225, 1961.

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

GONÇALVES, V. L. C. ; PINTO, B. P. ; MUSGUEIRA, L. C. et al. **Produção de éteres e ésteres da glicerina.** Disponível em:

<<http://www.biodiesel.gov.br/docs/congressso2006/CoProdutos/Biogasolina3.pdf>>.

Acesso em: 16 jul. 2011.

HAIR, J. F.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L.; BLACK, W. C. **Análise multivariada de dados**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 593 p.

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

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

HOFFMAN, R. **Componentes principais e análise fatorial**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1992. 25 p. (Serie Didática).

IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry). **A guide to IUPAC nomenclature of organic compounds – recommendations**, 1993.

JOHNS, A. T. Fermentation of glycerol in the rumen of sheep. **New Zealand Journal Science and Technology**, Wellington, v. 35, p. 262-269, 1953.

JOHNSON, R. B. The treatment of ketosis with glycerol and propylene glycol. **Cornell Veterinarian**, v. 44, p. 6-21, 1955.

JOHNSON, R. A.; WICHERN, D. W. **Applied multivariate statistical analysis**. 2. ed. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 1992. 642 p.

KHALILI, H.; VARVIKKO, T.; TOIVONEN, V.; HISSA, K.; SUVITIE, M. The effects of added glycerol or unprotected free fatty acids or a combination of the two on silage intake, milk production, rumen fermentation and diet digestibility in cows given grass silage based diets. **Agriculture Food Science Finland**, Jokioinen, v. 6, p. 349-362, 1997.

KIJORA, C.; BERGNER, H.; KUPSCH, R. D.; HAGEMAN, L. Glycerol as feed component in diets of fattening pigs. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 47, n. 4, p. 345-360, 1998.

KREBS, H. A.; LUND, P. Formation of glycose from hexoses, pentoses, polys and related substances in kidney cortex. **Biochemistry Journal**, v. 98, p. 210-214, 1966.

KREBS, H. A.; NOTTON, B.M.; HEMS, R. Gluconeogenesis in mouse liver slices. **Biochemistry Journal**, v. 101, p. 607-617, 1966.

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

KRISTENSEN, N. B.; RAUN, B. M. L. **Ruminal fermentation, portal absorption, and hepatic metabolism of glycerol infused into the rumen of lactating dairy cows.** Ortiqes-Marty: EAAP Publication, 2007. n.124, p. 355-356. 2007.

LEE, S.; LEE, S.; YOUNG-BAE, C.; KEM, D.; LEE, S.; KIM, C.; SEO, S. Glycerol as a feed supplement for ruminants: *In vitro* fermentation characteristics and methane production. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 166–167, p. 269-274, 2011.

LOPES, F.C.F.; RODRIGUEZ, N.M. ; AROEIRA, L.J.M. ; SAMPAIO, I.B.M.; DERESZ, F.; BORGES, I. ; PACIULLO, D.S.C.; BERCHIELLI, T.T. Relação entre variáveis na regulação do consumo de vacas Holandês × Zebu em lactação sob pastejo em capim-elefante. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, n. 1, p. 52-60, 2004.

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**, Champaign, v. 72, p. 2962-1968, 1994.

MCDONALD, I. A revise model for the estimation of protein degradability in the rumen. **Journal of Agricultural Science**, v. 96, n. 1, p. 251-252, 1981.

NRC (National Research Council). **Nutrients requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washington: DC.: National Academy Press, 2001. 381 p.

OGBORN, K. L. **Effects of method of delivery of glycerol on performance and metabolism of dairy cows during the transition period**. 2006. 90 f. Dissertation (Master in Animal Science) - Cornell University, Ithaca, 2006.

ORSKOV, E. R.; MCDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **Journal of Agricultural Science**, v. 92, n. 6, p. 499-503, 1979.

OVERTON, T. R. Use of glycerol in dairy rations. CORNELL NUTR. CONF. FEED MANUF. Syracuse, NY. Proceedings... p. 73-79, 2007.

OWENS, F. E.; GOETSCH, A. L. Fermentação Ruminal. In. CHURCH, D.C. **El rumiante: fisiologia digestiva e nutrición**, Zagaroza, Espanha: Acribia, p. 159-189, 1992.

PACHAURI, N.; HE, B. Value-added utilization of crude glycerol from biodiesel production: a survey of current research activities. In: ASABE - ANNUAL INTERNATIONAL MEETING, 2006, Moscow, Idaho, **Biological and Agricultural Engineering**,

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 Agricultural Science**, v. 142, p. 89–96, 2004.

PENZ JÚNIOR, A. M.; GIANFELICE, M. O que fazer para substituir os insumos que podem migrar para a produção de biocombustível. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36, supl. 1, p. 107-117, 2008.

PLÁ, J. A. Perspectivas do biodiesel no Brasil. **Indicadores Econômicos FEE**, Porto Alegre, v. 30, n. 2, p. 179-190, 2002.

RÉMOND, B.; SOUDAY, E.; JOUANY, J. P. *In vitro* and *in vivo* fermentation of glycerol by rumen microbes. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 41, n. 2, p. 121-132, 1993.

RICO, D.E.; CHUNG, Y.H.; MARTINEZ, C.M.; CASSIDY, T.; HEYLER, K.S.; VARGA, G.A. Effects of replacing starch or sugar with glycerin in diets for dairy cows on production and blood metabolites. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 1, p. 87, 2009a. Abstract.

RICO, D.E.; CHUNG, Y.H.; MARTINEZ, C.M.; CASSIDY, T.; HEYLER, K.S.; VARGA, G.A. Effects of replacing starch or sugar with glycerin on ruminal fermentation during continuous culture. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 1, p. 89, 2009b. Abstract.

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.

SAUER, F. D.; ERFLE, J. D.; FISHER, L. J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. I. Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 70, p. 3562, 1992.

SANTOS, P. P.; ABDALLA, A. L.; BERENCHTEIN, B.; MORSY, A. S.; GODOY, P. B.; MOURÃO, G.B. Produção de gases e degradabilidade *in vitro* de farelo de algodão e glicerina bruta em substituição ao farelo de soja e ao milho em dietas para ruminantes. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA: o desenvolvimento da produção animal e a responsabilidade frente a novos desafios. 48. **Anais...** 2011, Belém.

SAUER, F.D.; ERFLE, J.D.; FISHER, L.J. Propylene glycol and glycerol as a feed additive for lactating dairy cows: an evaluation of blood metabolite parameters. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 53, p. 265-271, 1973.

SCHRODER, A.; SUDEKUM, K. H. Glycerol as a by-product of biodiesel production in diets for ruminants. In: NEW HORIZONS FOR AN OLD CROP, RAPESEED CONGRESS, 10., 1999, Canberra, Austrália. **Proceedings...** p. 241, 1999.

SHIN, J.H.; KIM, S.C.; WANG, D.; ADESOGAM, A.T.; STAPLES, C.R. Glycerol supplementation for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 1, p. 88, 2009. Abstract.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos**: métodos químicos e biológicos. Viçosa : UFV, Imprensa Universitária, 2005. 166 p.

SOUZA, C. A. Sistemas catalíticos na produção de biodiesel por meio de óleo residual. In: CONGRESSO INTERNACIONAL SOBRE GERAÇÃO DISTRIBUÍDA E ENERGIA NO MEIO RURAL, 6., 2006, Campinas. **Anais...** Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 2006.

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

UDÉN, P.; COLUCCI, P. E.; VAN SOEST, P. J. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta. Rate of passage studies. **Journal of Science Food and Agriculture**, v. 31, n. 2, p. 625-638, 1980.

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

VITO, E. S. **Glicerina bruta na alimentação de vacas leiteiras**. 2010. 40 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010.

WANG, C.; LIU, Q.; 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**, Amsterdam, v. 121, n. 1, p. 15-20, 2009.

WRIGHT, D. E. Fermentation of glycerol by rumen microorganisms. **New Zeland Journal of Agricultural Research**, Wellington, v. 12, p. 281-286, 1969.

ZACARONI, O. F. **Resposta de vacas leiteiras à substituição de milho por glicerina bruta**. 2010. 43 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

ZANINE, A. M.; DIAS, P. F.; SOUTO, S. M.; FERREIRAT, D. J.; SANTOS, E. M.; PINTO, L. F. B. Avaliação do capim-tanzânia (*Panicum maximum*) por meio de métodos de análise multivariada. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 9, n. 1, p. 179-189, 2008.

S586d Silva, Zinaldo Firmino da
Digestão e fermentação ruminal em vacas leiteiras recebendo
glicerina bruta na dieta. / Zinaldo Firmino da Silva. – – Jaboticabal,
2011
xii, 42 f. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2011
Orientadora: Jane Maria Bertocco Ezequiel
Banca examinadora: Atushi Sugohara, Juliana Borsari Dourado
Sancanari, Mauro Dal Secco de Oliveira, Weber Vilas Boas Soares
Bibliografia

1. Bovinos. 2. Glicerina 3. Rúmen. I. Título. II. Jaboticabal-
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636:085.636.2

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