

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

**GLICERINA BRUTA EM DIETAS PARA BOVINOS DA RAÇA**  
**NELORE CONFINADOS**

**Eric Haydt Castello Branco Van Cleef**

Zootecnista

**JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL**

**Fevereiro de 2012**

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

**GLICERINA BRUTA EM DIETAS PARA BOVINOS DA RAÇA**  
**NELORE CONFINADOS**

Eric Haydt Castello Branco Van Cleef

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Jane Maria Bertocco Ezequiel

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte as exigências para a obtenção do título de Doutor em Zootecnia (Produção Animal).

JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL

Fevereiro de 2012



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**

**CAMPUS DE JABOTICABAL**

**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL**

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO:** GLICERINA BRUTA EM DIETAS PARA BOVINOS DA RAÇA NELORE CONFINADOS

**AUTOR:** ERIC HAYDT CASTELLO BRANCO VAN CLEEF

**ORIENTADORA:** Profa. Dra. JANE MARIA BERTOCCO EZEQUIEL

Aprovado 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

Prof. Dr. LUIZ CARLOS ROMA JÚNIOR

Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios / Ribeirão Preto/SP

Profa. Dra. LUCIA MARIA ZEOULA

Departamento de Zootecnia / Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dr. MÁRIO DE BENI ARRIGONI

Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal / Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu

Prof. Dr. MAURO DAL SECCO DE OLIVEIRA

Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Data da realização: 01 de fevereiro de 2012.

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**ERIC HAYDT CASTELLO BRANCO VAN CLEEF** – Nascido em 7 de abril de 1982, na cidade de São Paulo – SP, filho de Coenraad Franz Henricus Maria van Cleef e Heliane Haydt Castello Branco van Cleef, iniciou o curso de graduação em Zootecnia na Universidade Federal de Lavras – MG (UFLA) em agosto de 2001. No mês de junho de 2006, formou-se Zootecnista. Em agosto do mesmo ano, ingressou no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da mesma instituição, onde desenvolveu projeto de Mestrado na área de nutrição de ruminantes e conservação de forragens. Concomitantemente, ingressou no curso de Pós-graduação em julgamento das raças zebuínas das Faculdades Associadas de Uberaba (FAZU) e em dezembro de 2007 obteve o título de Especialista. No mês de fevereiro de 2008 defendeu dissertação e tornou-se Mestre em Zootecnia (Nutrição de Ruminantes). Em março de 2008 ingressou no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Unesp – Jaboticabal), onde desenvolveu projeto de tese de doutorado com o tema “Glicerina bruta em dietas para bovinos da raça Nelore confinados”. No mês de fevereiro de 2012 defendeu a tese de Doutorado recebendo o título de Doutor em Zootecnia (Produção Animal).

*A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original.*  
(Albert Einstein)

*Os problemas significativos que enfrentamos não podem ser resolvidos no mesmo nível de pensamento em que estávamos quando os criamos.*  
(Albert Einstein)

*Jamais considere seus estudos como uma obrigação, mas como uma oportunidade invejável para aprender a conhecer a influência libertadora da beleza do reino do espírito, para seu próprio prazer pessoal e para proveito da comunidade à qual seu futuro trabalho pertencer.*  
(Albert Einstein)

*Sempre haverá mais ignorantes que sabedores, enquanto a ignorância for gratuita e a ciência dispendiosa.*  
(Marquês de Maricá)

**Dedico**

*À minha mãe Heliane, avó Heliette, irmã Karen e noiva Flávia, as quais são  
as pessoas mais importantes da minha vida,*

**Ofereço**

*Ao meu pai Coenraad (in memoriam) que infelizmente não pôde ser  
testemunha ocular dessa fase tão importante da minha vida.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por permitir que eu chegasse a mais essa fase de minha vida com saúde e disposição,

A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Jane Maria Bertocco Ezequiel, pela orientação acadêmica e pessoal, pelos valiosos ensinamentos, oportunidades, viagens e, principalmente, pela amizade,

À banca examinadora formada pelos professores: Mauro Dal Secco de Oliveira, Mario De Beni Arrigoni, Luiz Carlos Roma Júnior e Lucia Maria Zeoula.

À minha família, pelo apoio incondicional às minhas escolhas, em todos os momentos que fizeram parte dessa jornada,

A Universidade Federal de Lavras (UFLA), onde passei bons momentos e adquiri conhecimento e maturidade para enfrentar o que viria pela frente no doutorado,

Aos professores do Departamento de Zootecnia da UFLA, especialmente, ao Prof. Dr. José Cleto da Silva Filho, pela amizade e pelos ensinamentos passados durante a graduação e o mestrado,

A Universidade Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FCAV – Unesp – Jaboticabal), pela estrutura física e de pessoas, que tornaram meus experimentos possíveis de serem realizados,

A Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da bolsa de estudos (Processo: 2008/53712-0) e pelo financiamento do meu projeto de tese (Processo: 2009/51857-3),

A Caramuru Alimentos S.A. pelo fornecimento de parte dos ingredientes utilizados em meus experimentos,

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

Aos meus colegas e amigos, irmãos de orientação, Juliana Sancanari, Eliane Morgado, Vanessa Fávaro, Antônio Carlos Júnior, André D`Aurea, Josi Paschoaloto, Viviane Santos e Priscila Oliveira.

Aos grandes amigos Aníbal Coutinho do Rêgo, Leonardo Pascoal e Pedro Watanabe pelos momentos agradáveis que passamos juntos,

Ao amigo Josemir de Souza Gonçalves, pela amizade, ensinamentos, companherismo e exemplo de dedicação e devoção à ciência,

Às minhas estagiárias Fabieli Feitosa e Marisa Manço pelo aprendizado adquirido com orientações,

Aos meus braços direitos Flávia Scarpino e David Attuy, pela dedicação, aulas perdidas, fins de semana, madrugadas. Sem eles nada disso seria possível.

Ao Departamento de Medicina Veterinária da Unesp e ao professor José Wanderley Cattelan, pela disponibilidade de uso do hospital veterinário para cirurgia de canulação e pelo cuidado com meus animais,

Aos alunos das disciplinas “Nutrição Animal” e “Práticas zootécnicas em nutrição animal” pela possibilidade ter maior contato com o ensino.

Ao meu treinador Fábio Travaini de Lima e aos amigos da Academia Cardiofísico, com os quais passei bons momentos de descontração,

**A todos vocês, muito obrigado!**

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                                                   | Página    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>RESUMO.....</b>                                                                                                                                                                | <b>x</b>  |
| <b>SUMMARY.....</b>                                                                                                                                                               | <b>xi</b> |
| <b>CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....</b>                                                                                                                                     | <b>1</b>  |
| Introdução .....                                                                                                                                                                  | 1         |
| Biodiesel .....                                                                                                                                                                   | 3         |
| Glicerina.....                                                                                                                                                                    | 3         |
| Metabolismo da Glicerina.....                                                                                                                                                     | 4         |
| Glicerina na nutrição de ruminantes.....                                                                                                                                          | 7         |
| Objetivo geral .....                                                                                                                                                              | 9         |
| Objetivos específicos .....                                                                                                                                                       | 9         |
| Referências.....                                                                                                                                                                  | 10        |
| <b>CAPÍTULO 2 – GLICERINA BRUTA EM DIETAS DE BOVINOS DA RAÇA NELORE CONFINADOS: COMPORTAMENTO INGESTIVO, CONSUMO DE MATÉRIA SECA E DE NUTRIENTES E DESEMPENHO ANIMAL.....</b>     | <b>15</b> |
| RESUMO .....                                                                                                                                                                      | 15        |
| Introdução .....                                                                                                                                                                  | 16        |
| Material e métodos.....                                                                                                                                                           | 17        |
| Resultados e discussão .....                                                                                                                                                      | 21        |
| Conclusão .....                                                                                                                                                                   | 27        |
| Referências.....                                                                                                                                                                  | 27        |
| <b>CAPÍTULO 3 – GLICERINA BRUTA EM DIETAS DE BOVINOS DA RAÇA NELORE CONFINADOS: PARÂMETROS SANGUÍNEOS, CARACTERÍSTICAS QUANTITATIVAS DA CARÇAÇA E QUALITATIVAS DA CARNE .....</b> | <b>31</b> |
| RESUMO .....                                                                                                                                                                      | 31        |
| Introdução .....                                                                                                                                                                  | 32        |
| Material e métodos.....                                                                                                                                                           | 34        |
| Resultados e discussão .....                                                                                                                                                      | 40        |
| Conclusão .....                                                                                                                                                                   | 55        |
| Referências.....                                                                                                                                                                  | 55        |
| <b>CAPÍTULO 4 – GLICERINA BRUTA EM DIETAS DE BOVINOS DA RAÇA NELORE CONFINADOS: DIGESTIBILIDADE APARENTE E DEGRADABILIDADE RUMINAL .....</b>                                      | <b>62</b> |
| RESUMO .....                                                                                                                                                                      | 62        |

|                                                                                                                                                                                             |            |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| Introdução .....                                                                                                                                                                            | 63         |
| Material e métodos.....                                                                                                                                                                     | 64         |
| Resultados e discussão .....                                                                                                                                                                | 69         |
| Conclusão .....                                                                                                                                                                             | 79         |
| Referências.....                                                                                                                                                                            | 79         |
| <b>CAPÍTULO 5 – GLICERINA BRUTA EM DIETAS DE BOVINOS DA RAÇA NELORE CONFINADOS: PARÂMETROS RUMINAIS, PRODUÇÃO DE GASES DE EFEITO ESTUFA, PRODUÇÃO E QUALIDADE DA MASSA MICROBIANA .....</b> | <b>84</b>  |
| RESUMO .....                                                                                                                                                                                | 84         |
| Introdução .....                                                                                                                                                                            | 85         |
| Material e métodos.....                                                                                                                                                                     | 87         |
| Resultados e Discussão.....                                                                                                                                                                 | 95         |
| Conclusões .....                                                                                                                                                                            | 111        |
| Referências.....                                                                                                                                                                            | 111        |
| <b>CAPÍTULO 6 – IMPLICAÇÕES .....</b>                                                                                                                                                       | <b>117</b> |

## **GLICERINA BRUTA EM DIETAS PARA BOVINOS DA RAÇA NELORE CONFINADOS**

**RESUMO** – Objetivou-se neste estudo avaliar a inclusão de glicerina bruta em dietas para bovinos da raça Nelore e seu efeito sobre o comportamento ingestivo, consumo, desempenho, parâmetros sanguíneos, características de carcaça e carne, digestibilidade, degradabilidade, parâmetros ruminais, produção de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> e da massa microbiana. Cinco dietas experimentais foram testadas: G0 - controle sem adição de glicerina, G7,5 - 7,5% de glicerina na matéria seca da dieta, G15 - 15% de glicerina na matéria seca da dieta, G22,5 - 22,5% de glicerina na matéria seca da dieta e G30 - 30% de glicerina na matéria seca da dieta. No primeiro experimento foram utilizados bovinos (n=30, machos, não castrados, raça Nelore, 277,7kg PC, 18 meses de idade) distribuídos em delineamento em blocos ao acaso. Foram avaliados, durante 103 dias de confinamento, o consumo de MS e de nutrientes, GMD, CA, EA, além do comportamento ingestivo. No segundo experimento foram avaliados os parâmetros sanguíneos dos animais do confinamento e pesos de carcaça quente e fria, rendimento de carcaça, AOL, GSUB, além da composição centesimal, perfil de AG, colesterol e análise sensorial da carne. No terceiro experimento foram avaliadas as digestibilidades da MS e de nutrientes e a degradabilidade ruminal dos ingredientes utilizados. Para as incubações ruminais foram utilizados bovinos (n=5, machos castrados, raça Nelore, 400kg PC, 24 meses de idade) dotados de cânulas ruminais permanentes e distribuídos em delineamento em quadrado latino (5 × 5). No quarto experimento foram avaliados pH, N-NH<sub>3</sub>, AGCC, produção de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>, além das bactérias sólido-aderidas e bactérias e protozoários líquido associados. A inclusão de até 30% de glicerina deprimiu a digestibilidade e degradabilidade da fibra, diminuiu a produção de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> e interfere negativamente na produção de bactérias sólido-aderidas, não promovendo alterações nas variáveis de desempenho e características da carcaça, além de melhorar a qualidade da carne dos animais.

**Palavras-Chave:** biodiesel, carcaça, coproduto, desempenho, digestibilidade

## CRUDE GLYCERIN IN DIETS FOR NELORE FEEDLOT CATTLE

**SUMMARY** – The objective of this study was to evaluate the inclusion of crude glycerin in diets for Nellore cattle and its effect on ingestive behavior, intake, performance, blood parameters, characteristics of carcass and meat, digestibility, degradability, ruminal parameters, production of CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub> and microbial mass. Five experimental diets were tested: G0 - control without addition of glycerin, G7, 5 - 7.5% glycerin in the diet dry matter, G15 - 15% glycerin in the diet dry matter, G22, 5 - 22.5% glycerin in the diet dry matter and G30 - 30% glycerin in the diet dry matter. In the first experiment bovine (n=30, steers, Nellore, BW 277.7 kg, 18 months old) distributed in a randomized block design were used. It was evaluated during 103 days of feedlot, DM and nutrient intake, ADG, G:F, F:G, and ingestive behavior. The second experiment evaluated the blood parameters of animals in the feedlot, hot and cold carcass weights, LM, SF, and the proximate composition, fatty acid profile, cholesterol and sensory analysis of meat. In the third experiment it was evaluated the dry matter and nutrient digestibility and ingredients degradability. For rumen incubations, cattle (n=5 steers, Nellore, BW 400kg, 24 months old) fitted with permanent ruminal cannulas and distributed in Latin square design (5 × 5) were used. In the fourth experiment it was evaluated pH, N-NH<sub>3</sub>, SCFA, production of CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub>, in addition to the particle-associated bacteria and liquid-associated protozoa and bacteria. The inclusion of up to 30% glycerin depresses fiber digestibility and degradability, decreases production of CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub> and has negative impact on the production of particle-associated bacteria, and it does not promote changes in performance variables, carcass characteristics, but improves quality of animal meat.

**Keywords:** biodiesel, carcass, coproduct, digestibility, performance

## **CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS**

### **Introdução**

O rebanho bovino brasileiro, de acordo com o ANUALPEC (2011), conta com um efetivo de aproximadamente 180 milhões de cabeças e com uma taxa de abate de 22,9%.

Atualmente, dos 41,2 milhões de bovinos abatidos por ano no Brasil, estimam-se que apenas 2,7 milhões sejam animais confinados e que o restante (cerca de 38,5 milhões) seja terminado em semiconfinamentos e pastagens (ANUALPEC, 2011). Pode-se observar, então, que nosso sistema ainda é baseado na produção de carne bovina em pastagens, mesmo que o confinamento apresente diversas vantagens como a redução na idade de abate do animal, produção de carne de melhor qualidade, aumento no desfrute reduzindo a ociosidade dos frigoríficos na entressafra, maior giro de capital, melhor aproveitamento das áreas de pastagens para outras categorias animais e elevada produção de adubo orgânico (LOPES & MAGALHÃES, 2005).

A alimentação é a base da produção animal e dela depende o êxito financeiro do empreendimento, já que é o componente do custo variável mais elevado da atividade pecuária confinada (cerca de 70%), por isso o conhecimento de seu valor nutritivo, bem como a forma em que a mesma é aproveitada pelo animal são de fundamental importância para que se consiga retirar o máximo proveito deste fator de produção e, assim, viabilizar a terminação intensiva de bovinos (PACHECO et al., 2006).

Com o propósito de minimizar os gastos com a alimentação, tem-se buscado a utilização de resíduos agroindustriais ou alimentos alternativos viáveis economicamente e nutricionalmente. Unindo este fato à necessidade de se obter um destino ambientalmente correto aos subprodutos e co-produtos da indústria do biodiesel, a utilização dos mesmos na alimentação animal vem se tornando cada vez mais estudada.

O Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel foi lançado pelo governo nacional com o objetivo principal de garantir a produção viável economicamente do

biocombustível além da inclusão social e o desenvolvimento regional (SUAREZ & MENEGETTI, 2007).

A lei 11.097, de 13 de janeiro de 2005, estabeleceu a obrigatoriedade do uso de B2 (2% de biodiesel adicionado ao óleo diesel) a partir do início de 2008. Entre 2008 e 2013, a adição de 5% seria opcional e, a partir daí, este nível passaria a ser obrigatório (MCT, 2005).

A partir de 1º de julho de 2008, o óleo diesel comercializado no Brasil passou a conter, obrigatoriamente, 3% de biodiesel (B3). Esta regra foi estabelecida pela Resolução nº 2 do Conselho Nacional de Política Energética, publicada em março de 2008, que aumentou de 2% para 3% o percentual obrigatório de mistura de biodiesel ao óleo diesel convencional (MME, 2009). Com essa modificação na lei vigente, a produção de biodiesel no Brasil ultrapassaria a marca de um bilhão de litros no ano de 2009.

Porém, em 2010 foi aprovada a lei que antecipou a obrigatoriedade da adição de 5% de 2013 para 2010, fazendo com que o Brasil produzisse cerca de 2,4 bilhões de litros de biodiesel, tornando o país o segundo maior produtor desse biocombustível no mundo, atrás somente da Alemanha, que produz atualmente cerca de 2,6 bilhões de litros (MME, 2011).

Assumindo que cerca de 10% de todo o biodiesel produzido torna-se glicerina ao final do processo de obtenção (DASARI et al., 2005), o Brasil produz em torno de 240 milhões de litros de glicerina bruta. 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.

Uma das alternativas seria a inclusão da glicerina bruta em dietas para animais, principalmente de ruminantes, uma vez que esses animais têm capacidade de aproveitar alimentos contendo impurezas, devido às transformações que ocorrem pela presença dos microorganismos ruminais.

## **Biodiesel**

Estudos apontam que a utilização da biomassa para fins energéticos, vem tendo uma participação crescente perante a matriz energética mundial, levando a estimativas de que até o ano de 2050 deverá dobrar o uso mundial de biomassa disponível (FISCHER & SCHRATTENHOLZER, 2001). Devido a esse fato, surgem novas alternativas, como a utilização de combustíveis obtidos da agricultura (etanol e biodiesel).

Biodiesel é um combustível biodegradável, derivado de fontes renováveis, que pode ser obtido por diferentes processos, tais como o craqueamento, a esterificação ou pela transesterificação. Pode ser produzido a partir de gorduras animais ou de óleos vegetais, existindo dezenas de espécies vegetais no Brasil que podem ser utilizadas, como a mamona, dendê, girassol, babaçu, nabo forrageiro, amendoim, pinhão manso e soja (MCT, 2005).

O biodiesel é fabricado através de um processo químico no qual a glicerina é separada da gordura ou do óleo vegetal. O processo gera como produtos os ésteres (o nome químico do biodiesel) e a glicerina. Além da glicerina, a cadeia produtiva do biodiesel gera uma série de outros co-produtos, como as tortas (resíduo da prensagem de sementes de oleaginosas contendo grande quantidade de óleo remanescente) e os farelos, que podem agregar valor e se constituir em outras fontes de renda importantes para os produtores (PARENTE, 2003).

## **Glicerina**

A glicerina é um produto obtido do processamento dos óleos destinados para a indústria química e para a produção do biodiesel, sendo que para cada nove quilos de biodiesel produzidos, um quilo de glicerina é formado (DASARI et al., 2005).

Ela é composta basicamente por glicerol e quantidades variadas de água e outras impurezas, como álcoois e catalisadores (PODKÓWKA, 2004).

O glicerol é um álcool triidratado, incolor, não apresenta odor e tem sabor adocicado. Sua temperatura de fusão é 17,8°C, é decomposto aos 290°C e é miscível em água e álcool (PERRY & GREEN, 1997; PACHAURI & HE, 2006).

A glicerina tem uma ampla gama de aplicações, tais como emulsificante, amaciante, plastificante, estabilizante e umectante em pães, sorvetes e tabaco. Além dessas, a glicerina pode ser utilizada em loções para a pele, enxaguatórios bucais, em inúmeras preparações cosméticas e farmacêuticas, como meio de proteção para congelamento de células sangüíneas, esperma, córneas e outros tecidos, em tintas de impressão, gomas, resinas, em tintas e revestimento e também como mistura anti-congelante e como matéria-prima para nitroglicerina (PERRY & GREEN, 1997).

Fazendo uma relação com a nutrição animal, os valores econômico e energético da glicerina bruta podem ser comparados ao do grão de milho depois da correção para os seus teores de glicerol e de matéria seca, podendo esta última variar entre 99 e 73,2%.

A utilização da glicerina bruta (com impurezas), obtida diretamente da produção do biodiesel, é um dos grandes desafios, já que este coproduto não pode ser usado diretamente na indústria cosmética. Além disso, o seu uso efetivo ou conversão da glicerina em produtos específicos reduzirá o custo de produção do biodiesel.

## **Metabolismo da Glicerina**

A glicerina ou glicerol é um precursor para a síntese de triacilgliceróis e de fosfolipídeos no tecido adiposo e, principalmente no fígado. Quando os animais utilizam tecido adiposo como fonte energética, ácidos graxos e glicerol são liberados na corrente sanguínea, e este último pode ser convertido em glicose pelo fígado, providenciando energia para o metabolismo celular (MOUROT et al.,1994).

Em tecidos adiposos, o glicerol-3-fosfato (ou corretamente nomeado de L-glicerol-3-fosfato, D-glicerol-1-fosfato, ou sn-glicerol-3-fosfato) é obtido a partir da substância dihidroxicetona fosfato, através da ação da enzima glicerol-3-fosfato

desidrogenase. Porém, cerca de 95% da energia biologicamente disponível dos triacilgliceróis reside em seus três ácidos graxos de cadeia longa e apenas 5% é contribuído por fração glicerol. O glicerol, que é liberado pela ação da lipase, é fosforilado pela enzima glicerol quinase e o glicerol-3-fosfato resultante é oxidado a dihidroxiacetona fosfato. A enzima glicolítica triose fosfato isomerase converte este composto a gliceraldeído-3-fosfato, que é oxidado através da glicólise (LEHNINGER, 2007).

O glicerol, utilizado como ingrediente energético alternativo para vacas leiteiras, é fermentado a ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no rúmen. Pesquisas antigas (JOHNS, 1953) indicaram que a glicerina é fermentada quase que totalmente a propionato. Já em estudos conduzidos “in vitro” foram observados aumentos nas produções tanto de propionato quanto de butirato (REMOND et al., 1993) e, quando este último aumentou, um incremento concomitante das concentrações de  $\beta$ -hidroxibutirato no plasma foi observado (GARTON et al., 1961). Há também relatos de que há aumento em ácido acético e butírico (WRIGHT, 1969).

Chegou-se a conclusão de que há uma adaptação dos microorganismos ruminais ao fornecimento de glicerol conforme o tempo de fornecimento, fato esse que exige um período de adaptação para a inclusão desse ingrediente na dieta de ruminantes (KREHBIEL, 2008).

Muitos estudos estão sendo conduzidos atualmente com o objetivo de definir o destino da glicerina no organismo animal, e a maioria destes, sugere que a glicerina é amplamente fermentada no rúmen e que a extensão da digestão desse ingrediente é dependente da concentração de inclusão na dieta (DONKIN, 2008).

Outros estudos mais recentes sugerem que os prováveis destinos do glicerol estão distribuídos nas seguintes proporções: passagem (13%), fermentação (44%) absorção (43%) (KREHBIEL, 2008).

KIJORA et al. (1998) observaram que a infusão intraruminal de glicerol aumentou o glicerol plasmático em aproximadamente 150%. Esses autores também relataram que o desaparecimento do glicerol ocorreu rapidamente (85% do glicerol desapareceu em 2 horas) além de terem encontrado glicerol em amostras de digesta duodenal. Outro

estudo, onde foram adicionados de 15 a 25% de glicerol, este desapareceu quase completamente dentro de 6 horas (BERGNER et al., 1995).

Dentre as espécies de bactérias ruminais, as *Selenomonas ruminantium* demonstraram ser fermentadoras de glicerol (HOBSON & MANN, 1961) e como principais produtos finais tem-se o propionato, lactato, succinato e acetato. No entanto, outros produtos finais da fermentação do glicerol tem sido relatados.

Estudos com vacas leiteiras demostram que as concentrações de glicose no sangue aumentam quando os animais recebem glicerol intraruminalmente. Taxas de absorção de glicerol através do epitélio ruminal em relação à quantidade que é fermentado pode determinar a gliconeogenicidade do glicerol em ruminantes (KREHBIEL, 2008).

Em monogástricos, a glicerina consumida é absorvida por via paracelular nos enterócitos por difusão passiva, e há evidências de que no intestino delgado de ratos, este processo de transporte seja sódio dependente ( $\text{Na}^+$ ), (KATO et al., 2005). Independente do mecanismo de absorção, o glicerol vai ao fígado pela veia porta e atua como um precursor de gliconeogênio como no caso do glicerol endógeno liberado pelo catabolismo de triacilgliceróis.

O glicerol absorvido é metabolizado no fígado (LIN, 1977), e a enzima glicerol quinase é responsável pela canalização de glicerol na etapa triose fosfato da glicólise/gliconeogênese. Quando as demandas de glicose estão altas, como é quase sempre o caso de vacas em lactação, o destino do glicerol absorvido ou propionato produzido pela fermentação ruminal provavelmente sejam idênticos (DONKIN & DOANE, 2007).

Como se pôde perceber, o metabolismo do glicerol ainda não está definitivamente esclarecido, principalmente quando se trata de animais ruminantes, os quais possuem diversos fatores intrínsecos que podem afetar o aproveitamento deste ingrediente alternativo.

## **Glicerina na nutrição de ruminantes**

Estudos em que a glicerina esteja incluída na dieta de ruminantes de corte ainda são escassos, uma vez que o aumento na oferta desse co-produto oriundo da indústria do biodiesel é recente e a grande maioria dos trabalhos relacionados a esse assunto está na área de bovinocultura leiteira. Esses trabalhos têm mostrado que muitos benefícios são conseguidos com a administração da glicerina para ruminantes.

REMOND et al. (1993) observaram aumentos nas concentrações de ácidos propiônico e butírico e uma queda na concentração de ácido acético pelo rúmen de vacas consumindo silagem de milho e suplementadas com 240 ou 1200 g/dia de glicerina, observando melhoria no metabolismo energético dos animais.

SCHRÖDER & SÜDEKUM (1999), estudando os efeitos da inclusão de glicerina com três tipos de pureza (63,3; 85,3 e 99,8%) na dieta de bovinos, sobre a digestibilidade total, produção de massa microbiana e “turnover” ruminal dos nutrientes, concluíram que esse ingrediente tem potencial de utilização em dietas para ruminantes, mesmo apresentando impurezas (glicerina do biodiesel).

BODARSKI et al. (2005), estudando o efeito da suplementação de 36 vacas leiteiras com até 500 ml de glicerina pura por cabeça por dia (2,5 a 3,5% da dieta), concluíram que a inclusão deste ingrediente na ração, em forma de ração total, proporcionou aumento de até 14,6% na produção de leite. Esses mesmos autores observaram também correlação linear positiva entre as doses de glicerina e o teor de proteína do leite, além de maior consumo de matéria seca, bem como uma melhor condição corporal dos animais alimentados com glicerina.

CHUNG et al. (2007), fornecendo glicerina (250 g/dia) para vacas leiteiras, observaram que os animais suplementados com a glicerina apresentaram maior concentração de glicose no sangue, menores concentrações plasmáticas de  $\beta$ -hidroxibutirato e menores concentrações de cetonas na urina que os animais do grupo controle. Porém, mesmo com as mudanças metabólicas, os autores não observaram incrementos na produção de leite e no consumo de matéria seca.

DONKIN et al. (2007), trabalhando com 60 vacas leiteiras suplementadas com até 15% de glicerina como substituto do milho não encontraram diferenças no consumo de matéria seca, produção e composição do leite e na condição corporal.

Nos últimos anos, com a tendência de intensificação de uso da terra, os sistemas de terminação de bovinos de corte em confinamento vêm ganhando cada vez mais importâncias dentro da atividade pecuária, assim, novas pesquisas surgem no sentido de estudar a viabilidade da terminação dos animais neste tipo de sistema de produção, bem como estudar a inclusão de novos alimentos alternativos que poderão diminuir o custo de produção da atividade.

PYATT et al. (2007), ao substituir 10% do milho da dieta de terminação de bovinos cruzados por glicerina, observaram maiores ganhos de peso e melhor conversão alimentar para os animais que receberam a glicerina. Os mesmos autores concluíram que o fornecimento de glicerina bruta pode melhorar a eficiência de animais alimentados com dietas com elevadas quantidades de alimentos concentrados.

PARSONS et al. (2009) adicionaram 0, 2, 4, 8, 12 ou 16% de glicerina bruta em dietas de novilhas cruzadas. Foi observada diminuição linear na ingestão de matéria seca com o aumento da concentração de glicerina adicionada. A inclusão da glicerina aumentou o peso final dos animais até a concentração 8%, e, a partir dessa, diminuiu o peso final em até 14,3 kg (para a concentração 16% de inclusão de glicerina). A gordura subcutânea na 12ª costela e os escores de marmoreio das carcaças também foram diminuídos. Os autores concluíram que a adição de glicerina em dietas de terminação melhorou o ganho em peso e eficiência alimentar, particularmente nas concentrações de 8% ou menores.

MACH et al. (2009) avaliaram o desempenho e a qualidade da carne de bovinos da raça Holandesa recebendo 0, 4, 8 e 12% de glicerina bruta. Os autores chegaram à conclusão de que a inclusão de até 12% não interfere no desempenho, fermentação ruminal, metabolismo e variáveis qualitativas de carcaça e carne e que esse ingrediente pode ser efetivamente utilizado como ingrediente energético alternativo em substituição a cereais.

Estudando o efeito da inclusão de glicerina bruta de baixa qualidade (<40% de glicerol) na alimentação de ovinos, LAGE et al. (2010) observaram que a inclusão de até 6% de glicerina bruta otimizou a conversão alimentar dos animais e reduziu o custo do ganho de carcaça, quando o preço desse coproduto representava até 70% do preço do milho, mas comprometeu o consumo, a digestibilidade, as características quantitativas relacionadas à carcaça e ao desempenho dos animais.

GUNN et al. (2010) adicionaram até 20% de glicerina bruta em dietas para ovinos em terminação. Os autores observaram melhoria no desempenho quando atingiram concentração de 15% de glicerina bruta, e não observaram diferenças quanto às características de carcaça dos animais quando chegaram a 20% de inclusão.

No Brasil, as informações acerca da inclusão de co-produtos da indústria do biodiesel, principalmente da glicerina, são escassas. Estudos sobre a inclusão desses co-produtos na alimentação de bovinos devem ser realizados com o objetivo de melhor entender seu potencial, bem como avaliar os ganhos ou perdas produtivas que estão inseridos nessa ação.

## **Objetivo geral**

Objetivou-se neste estudo avaliar a introdução de até 30% de glicerina bruta (com base na matéria seca) em dietas para bovinos da raça Nelore mantidos em sistema de confinamento.

## **Objetivos específicos**

- 1-** Avaliar a inclusão de até 30% de glicerina bruta em dietas para bovinos da raça Nelore sobre o comportamento ingestivo, consumo de matéria seca e de nutrientes e o desempenho dos animais.

- 2- Avaliar os parâmetros sanguíneos, as características de carcaça e da carne produzidas por bovinos da raça Nelore alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta.
- 3- Avaliar a digestibilidade e degradabilidade da matéria seca e de nutrientes, parâmetros ruminais (pH, nitrogênio amoniacal e ácidos graxos de cadeia curta), produção e qualidade da massa microbiana (bactérias sólido-aderidas e bactérias e protozoários líquido-associados), além da produção "in vitro" de gases de efeito estufa (CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>) em bovinos da raça Nelore alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta.

## Referências

BERGNER, H. et al. In vitro studies on glycerol transformation by rumen microorganisms. **Archives Tierernahrung**, Berlin, v.48, n.3, p.245-256, 1995.

BORDARSKI, R. et al. The changes of metabolic status and lactation performance in dairy cows under feeding TMR with glycerin (glycerol) supplement at periparturient period. **Electronic Journal of Polish Agricultural Universities**, v.8, n.4, p.1-9, 2005.

CHUNG, Y.H. et al. 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. et al. Low-pressure hydrogenolysis of glycerol to propylene glycol. **Applied Catalysis A: General**, v.281, n.1-2, p.225-231, 2005.

DONKIN, S. S. Use of glycerin in dairy diets. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.1, p.393, 2007. Abstract.

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.

DONKIN, S.S. & DOANE, P. Glycerol as a feed ingredient in dairy rations. In: Tri-State Dairy Nutrition Conference, 2007. Fort Wayne. **Proceeding...** The Ohio State University, Columbus, p.97, 2007.

FISCHER, G. & SCHRATTENHOLZER, L. Global bioenergy potentials through 2050. **Biomass & Bioenergy**, v.20, n.3, p.151-159, 2001.

FNP Consultoria, ANUALPEC: **Anuário da Pecuária Brasileira**. São Paulo: 2011, 376p.

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

GUNN, P.J. et al. Effects o crude glycerin on performance and carcass characteristics of finishing whether lambs. **Journal of Animal Science**, v88, n.5, p.1771-1776, 2010.

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.

JOHNS, A. T. Fermentation of glycerol in the rumen of the sheep. **New Zealand Journal Science Technology**, v.35, n.4, p.262-269, 1953.

KATO, T. et al. Glycerol absorption by Na<sup>+</sup>- dependent carrier-mediated transport in the closed loop of the rat small intestine. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v.28, n.3, p.553-555, 2005.

KIJORA, C. et al. Research note: Investigation on the metabolism of glycerol in the rumen of bulls. **Archiv fur Tierernahrung**, v.51, n.4, p.341-348, 1998.

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

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

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de Bioquímica**. 4ed. São Paulo: Sarvier, 2007. 803p.

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

LOPES, M. A. & MAGALHÃES, G.P. Análise de rentabilidade de terminação de bovinos de corte em confinamento: um estudo de caso. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.3, p.374-379, 2005.

MACH, N.; BACH, A.; DEVANT, M. Effects of crude glycerin supplementation on performance and meat quality of Holstein bulls fed high-concentrate diets. **Journal of Animal Science**, v.87, n.2, p.632-638, 2009.

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

MCT. Ministério da Ciência e Tecnologia. Aspectos tecnológicos do biodiesel. Grupo de Trabalho Interministerial – biodiesel. Brasília, 2005. Disponível em: <http://www.biodiesel.gov.br>. Acesso em 22 Set 2005.

MME. Ministério de Minas e Energia. Biocombustíveis. Biodiesel obrigatório. Brasília, 2009. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br>>. Acesso em 16 Mar 2009.

MME. Ministério de Minas e Energia. Biocombustíveis. Biodiesel obrigatório. Brasília, 2009. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br>>. Acesso em 12 Ago 2011.

PACHAURI, N. & HE, B. "Value-added Utilization of Crude Glycerol from Biodiesel Production: A Survey of Current Research Activities", 2006. **Proceedings...** ASABE Annual International Meeting, 2006, p.6-12.

PACHECO, P.S. et al. Avaliação econômica em confinamento de novilhos jovens e superjovens de diferentes grupos genéticos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.1, p.309-320, 2006.

PARENTE, E. J. S. **Biodiesel: uma aventura tecnológica num país engraçado**. Fortaleza: Tecbio, 2003. 68p.

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, n.2, p.653-657, 2009.

PERRY, R.H. & GREEN, D.W. **Perry's Chemical Engineers' Handbook**. McGraw-Hill: New York, p. 2-39, 1997.

PODKÓWKA W. **Biopaliwo, gliceryna, pasza z rzepaku: praca zbiorowa**. Wydawnictwa Uczelniane Akademii Techniczno-Rolniczej, 2004, 225p.

PYATT, N.A.; DOANE, P.H.; CECAVA, M.J. Effect of crude glycerin in finishing cattle diets. **Journal of Animal Science**, v.85, supplement 1, p.553, 2007.

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

SCHRÖDER, A.; SÜDEKUM, K. H. Glycerol as a by-product of biodiesel production in diets for ruminants. In: NEW HORIZONS FOR AN OLD CROP, 1999, Canberra. **Proceedings...** Canberra: Internation Rapeseed, 1999, p.241.

SUAREZ, P. A. Z.; MENEGHETTI, S. P. M. 70º Aniversário do biodiesel em 2007: Evolução histórica e situação atual no Brasil. Quím. Nova, São Paulo, v. 30, n. 8, 2007. Disponível em: <<http://quimicanova.sbq.org.br/qn/qnol/2007/vol30n8/46-AG07046.pdf>>. Acesso em: 17 Mar 2008.

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

## **CAPÍTULO 2 – GLICERINA BRUTA EM DIETAS DE BOVINOS DA RAÇA NELORE CONFINADOS: COMPORTAMENTO INGESTIVO, CONSUMO DE MATÉRIA SECA E DE NUTRIENTES E DESEMPENHO ANIMAL**

**RESUMO** – Objetivou-se neste estudo avaliar a inclusão de até 30% de glicerina bruta em dietas para bovinos da raça Nelore e seu efeito sobre o comportamento ingestivo, consumo de matéria seca e de nutrientes e o desempenho animal. Utilizou-se 30 bovinos da raça Nelore (277,7 kg PC e 18 meses de idade), os quais foram mantidos em confinamento com baias individuais por 103 dias (21 de adaptação e 82 de colheita de dados). Os animais foram divididos em blocos (peso inicial) e submetidos a um dos cinco tratamentos: G0 - controle sem adição de glicerina, G7,5 - 7,5% de glicerina na matéria seca da dieta, G15 - 15% de glicerina na matéria seca da dieta, G22,5 - de 22,5% de glicerina na matéria seca da dieta e G30 - 30% de glicerina na matéria seca da dieta. Foram avaliadas, em três dias de observação, as atividades: alimentação, ócio e ruminação, bem como tempo e número de mastigações merícicas e as eficiências de alimentação e ruminação. Também foram avaliados os consumos de matéria seca e de nutrientes, além do ganho em peso médio diário, conversão alimentar e eficiência alimentar. Os dados foram analisados em blocos casualizados e foram realizadas análises de contrastes observando a significância dos modelos linear, quadrático e do tratamento controle × tratamentos com glicerina. A inclusão de até 30% de glicerina bruta em dietas de bovinos da raça Nelore altera a eficiência de alimentação, quando expressa em g FDN/h, a eficiência de ruminação em relação à FDN, o tempo e o número de mastigações merícicas por bolo ruminal, facilitando a ingestão dos alimentos e influenciando diretamente no tempo de alimentação, não deprimindo o consumo de matéria seca, tampouco afetando as variáveis de desempenho.

**Palavras-chave:** conversão alimentar, coproduto, ganho em peso, mastigações, ócio

## **Introdução**

No atual processo de intensificação da pecuária de corte brasileira verifica-se o aumento da prática de confinamento como estratégia alimentar ou alternativa de terminação de animais, porém o número total de animais abatidos sob esse sistema é infimamente inferior aos observados em países como os Estados Unidos e alguns países da União Europeia.

Em todo sistema intensificado, os custos de aquisição de ingredientes para a fabricação das rações são muito altos, principalmente devido à alta proporção de ingredientes concentrados e da alta concentração energética. Uma das soluções para minimizar esse problema seria a introdução de alimentos alternativos, subprodutos ou coprodutos da agroindústria nas dietas dos animais.

Com o advento do biodiesel e atual legislação do governo brasileiro que obriga a adição de 5% desse combustível ao diesel comum, há excedente de produção de glicerina bruta que deve ser absorvida de maneira ambientalmente viável e economicamente correta. Os subprodutos da agroindústria do biodiesel (tortas, farelos e glicerina) surgem como alternativas viáveis para alimentação de ruminantes (NEIVA JUNIOR et al., 2007).

A introdução da glicerina em dietas de bovinos de corte e leiteiros vem sendo investigada nos últimos anos e apresenta 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. Os resultados também indicam que se pode utilizar esse coproduto como substituto parcial ao milho em dietas para vacas leiteiras de alta produção (DONKIN, 2008).

A ingestão de alimentos é uma das funções mais importantes dos seres vivos, inclusive dos bovinos, os quais respondem de maneira diferente a cada tipo de alimento e de dieta, alterando os níveis de produção, taxa de fertilidade e comportamento alimentar.

As atividades diárias são caracterizadas por três comportamentos básicos: alimentação, ruminação e ócio. Sua duração e distribuição podem ser influenciadas pelas características da dieta, manejo, condições climáticas e atividade dos animais.

Os ruminantes adaptam-se às diversas condições de alimentação, manejo e ambiente e modificam os parâmetros do comportamento ingestivo para alcançar e manter determinado nível de consumo, compatível com as exigências nutricionais (HODGSON, 1990).

Quando se introduz um novo ingrediente em dietas para animais é importante estudar os efeitos dessa ação sobre o comportamento alimentar, uma vez que, disso depende a resposta dos animais em termos produtivos. Os resultados desses estudos podem subsidiar os produtores e pesquisadores no sentido de orientar quanto à melhor estratégia nutricional a ser utilizada dentro da propriedade.

Nesse sentido, objetivou-se nesse ensaio avaliar a inclusão de até 30% de glicerina bruta em dietas para bovinos em terminação e seu efeito sobre o comportamento ingestivo, consumo de matéria seca e de nutrientes e o desempenho animal.

## **Material e métodos**

O experimento foi conduzido no confinamento experimental pertencente ao Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/ Unesp, Câmpus de Jaboticabal, o qual possui 30 baias individuais semicobertas, com piso concretado e com cochos individuais e bebedouros a cada duas baias.

Foram utilizados 30 bovinos da raça Nelore, não castrados, com peso corporal de 277,7 kg e aproximadamente 18 meses de idade, os quais foram distribuídos em delineamento de blocos casualizados com 5 tratamentos e 6 repetições.

As cinco dietas experimentais isoproteicas (12,2% PB/MS) e isoenergéticas (2,5 Mcal de EM/kg MS) foram formuladas de acordo com o NRC (1996) e fornecidas na relação volumoso:concentrado 30:70 e denominadas de: Tratamento G0 - controle sem

adição de glicerina, Tratamento G7,5 - 7,5% de glicerina na matéria seca da dieta, Tratamento G15 - 15% de glicerina na matéria seca da dieta, Tratamento G22,5 - 22,5% de glicerina na matéria seca da dieta e Tratamento G30 - 30% de glicerina na matéria seca da dieta.

A glicerina bruta utilizada possuía 86% de glicerol, 95% de matéria seca, cerca de 6% de sais e menos de 0,01% de metanol. O volumoso utilizado foi a silagem de milho e o concentrado composto por milho em grão, casca de soja, farelo de girassol. O sal mineral foi fornecido à vontade nos cochos.

Na Tabela 1 está demonstrada a composição químico-bromatológica dos ingredientes utilizados na formulação das dietas e na Tabela 2 estão as porcentagens dos ingredientes e a estimativa da composição dos tratamentos.

Tabela 1. Matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e energia metabolizável (EM) dos alimentos utilizados na formulação das dietas experimentais

| Ingredientes           | MS*<br>(%) | PB*   | EE*  | FDN*  | FDA*  | EM <sup>1</sup><br>Mcal/kg MS |
|------------------------|------------|-------|------|-------|-------|-------------------------------|
|                        |            |       |      |       |       |                               |
| Silagem de milho       | 30,92      | 7,26  | 3,16 | 55,41 | 30,63 | 2,21                          |
| Milho                  | 87,94      | 9,11  | 4,07 | 13,98 | 4,08  | 3,10                          |
| Farelo de girassol     | 91,10      | 31,50 | 1,50 | 42,36 | 34,90 | 2,17                          |
| Glicerina <sup>2</sup> | 80,00      | 0,00  | 0,50 | 0,00  | 0,00  | 3,00                          |
| Casca de soja          | 89,80      | 11,65 | 1,60 | 68,40 | 50,52 | 2,42                          |
| Sal comum              | 100,00     | 0,00  | 0,00 | 0,00  | 0,00  | 0,00                          |
| Calcário calcítico     | 100,00     | 0,00  | 0,00 | 0,00  | 0,00  | 0,00                          |
| Fosfato bicálcico      | 100,00     | 0,00  | 0,00 | 0,00  | 0,00  | 0,00                          |

\*Análises realizadas no Laboratório de Ingredientes e Gases Poluentes da Unidade Animal de Estudos Digestivos e Metabólicos da FCAV/Unesp. <sup>1</sup>Valores tabelados. <sup>2</sup>Valor estimado.

O período total de confinamento foi de 103 dias, sendo os primeiros 21 dias destinados à adaptação dos animais ao manejo, às instalações e à dieta e 82 dias de período experimental propriamente dito. Os animais foram pesados no início da adaptação, para a divisão dos mesmos dentro dos blocos, no início do período de avaliação, bem como ao final, sempre após jejum alimentar de 14 horas, para acompanhamento da evolução do peso e do ganho em peso diário.

Tabela 2. Porcentagem dos ingredientes e estimativa da composição bromatológica dos tratamentos experimentais (% MS)

| Ingredientes       | Tratamentos                |                   |                  |                    |                  |
|--------------------|----------------------------|-------------------|------------------|--------------------|------------------|
|                    | G0 <sup>1</sup>            | G7,5 <sup>2</sup> | G15 <sup>3</sup> | G22,5 <sup>4</sup> | G30 <sup>5</sup> |
| Silagem de milho   | 30,00                      | 30,00             | 30,00            | 30,00              | 30,00            |
| Milho              | 35,00                      | 25,50             | 18,00            | 12,50              | 5,00             |
| Casca de soja      | 19,20                      | 18,05             | 14,55            | 8,90               | 5,45             |
| Farelo de girassol | 14,60                      | 17,8              | 21,30            | 24,90              | 28,4             |
| Glicerina          | 0,00                       | 7,50              | 15,00            | 22,50              | 30,00            |
| Sal comum          | 0,50                       | 0,50              | 0,50             | 0,50               | 0,50             |
| Calcário calcítico | 0,70                       | 0,65              | 0,55             | 0,70               | 0,65             |
| Fosfato bicálcico  | 0,00                       | 0,10              | 0,10             | 0,00               | 0,00             |
| <b>Total</b>       | 100,00                     | 100,00            | 100,00           | 100,00             | 100,00           |
| <b>Nutrientes</b>  | <b>Composição estimada</b> |                   |                  |                    |                  |
| PB (% MS)          | 12,20                      | 12,21             | 12,22            | 12,20              | 12,21            |
| EM (Mcal/kg MS)    | 2,53                       | 2,52              | 2,52             | 2,53               | 2,52             |
| EE (%)             | 2,90                       | 2,58              | 2,31             | 2,09               | 1,81             |
| FDN (%)            | 40,83                      | 40,07             | 38,11            | 35,01              | 33,08            |
| FDA (%)            | 25,41                      | 25,56             | 24,71            | 22,89              | 22,06            |
| HEM (%)            | 15,42                      | 14,51             | 13,41            | 12,12              | 11,02            |
| Ca (%)             | 0,56                       | 0,56              | 0,55             | 0,57               | 0,55             |
| P (%)              | 0,32                       | 0,32              | 0,35             | 0,34               | 0,34             |

<sup>1</sup>Tratamento controle sem adição de glicerina; <sup>2</sup>Adição de 7,5% de glicerina na MS da dieta; <sup>3</sup>Adição de 15% de glicerina na MS da dieta; <sup>4</sup>Adição de 22,5% de glicerina na MS da dieta; <sup>5</sup>Adição de 30,0% de glicerina na MS da dieta.

A alimentação foi ofertada duas vezes ao dia, as 8 e 18h. O concentrado e o volumoso foram pesados separadamente e misturados à glicerina no momento do fornecimento, em cada uma das refeições diárias. Antes da refeição da manhã eram pesadas e colhidas 10% das sobras de cada animal com a finalidade de ajustar a oferta de alimentos e calcular os consumos diários de matéria seca. As amostras de sobras colhidas diariamente foram combinadas dando origem a amostras compostas por semana e por animal, nas quais foram determinados os teores de matéria seca, extrato etéreo e proteína bruta, segundo SILVA & QUEIROZ (2002), e fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido, de acordo com GOERING & VAN SOEST (1970), utilizando-se de autoclave com 0,5 Kgf/cm<sup>2</sup>, 111°C por 50 minutos (PELL & SCHOFIELD, 1993), para que fossem calculados os consumos dos nutrientes.

Ao final do período experimental foram calculados o ganho em peso médio diário (GMD), conversão e eficiência alimentar (CA e EA, respectivamente).

A colheita de dados para avaliação do comportamento ingestivo ocorreu durante três dias de observações, em intervalos de 27 dias. Em cada período, a observação do comportamento ingestivo foi feita de modo focal direta, com intervalo amostral de dez minutos. Foram utilizados três observadores previamente treinados (um para cada dez animais) a cada seis horas, totalizando 24 horas. Foram registrados os tempos diários despendidos com consumo de alimento, ruminando deitado ou em pé e ócio deitado ou em pé.

A média do número de mastigações merícicas por bolo ruminal (NMB) e o tempo despendido na mastigação merícica por bolo ruminal (TMB) foram obtidos através de observações por animal ruminando em cada período de avaliação, totalizando ao menos 12 observações por animal, por período. Para o registro do TMB utilizou-se cronômetro digital.

Seguiu-se a metodologia de BÜRGER et al. (2000) e foram calculados: TAL (h/dia), tempo de alimentação; TRU (h/dia), tempo de ruminação; TRU (s/dia), tempo de ruminação; MMtb (s/bolo), tempo de mastigações merícicas por bolo ruminal (POLLI et al., 1996); MMnb (nº/bolo), número de mastigações merícicas por bolo; TOE (h/dia), o tempo de ócio em pé; e TOD (h/dia), o tempo de ócio deitado e as relações a seguir:

$EAL$  (eficiência de alimentação) =  $CMS/TAL$  (g MS/h)

$ERU$  (eficiência de ruminação) =  $CMS/TRU$  (g MS/h)

$ERU_{FDN}$  (eficiência de ruminação da FDN) =  $CFDN/TRU$  (g FDN/h)

$TMT$  (tempo de mastigação total) =  $TAL + TRU$  (h/dia)

$BOL$  (número de bolos ruminais) =  $TRU/MMtb$  (nº/dia)

$MMnd$  (mastigações merícicas) =  $BOLMMnb$  (nº/dia)

$TOT$  (tempo de ócio total) =  $TOE + TOD$  (h/dia)

Os dados foram analisados em blocos casualizados, com cinco tratamentos e seis repetições utilizando o procedimento GLM do programa estatístico SAS, versão

9.1. No modelo incluiu-se os fatores tratamento e bloco e para o ensaio de comportamento, incluiu-se ainda o período de observação. Foram feitas análises de contrastes observando a significância dos modelos linear, quadrático, cúbico, e do tratamento controle × tratamentos com glicerina.

## Resultados e discussão

Não foi observado efeito ( $P > 0,05$ ) da inclusão de glicerina às dietas dos animais sobre o consumo de matéria seca (Tabela 3).

Esse resultado está em desacordo com o encontrado por PARSONS et al. (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. PYATT et al. (2007) relataram diminuição de até 10,1% na ingestão de matéria seca quando a glicerina foi adicionada em concentração de 10% na dieta de bovinos.

Tabela 3. Consumo de matéria seca e nutrientes (na MS) por bovinos alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta

| Consumo<br>(kg MS/dia) | Glicerina bruta, (%) |      |      |       |      | Contrastes     |                |                      | EPM <sup>4</sup> |
|------------------------|----------------------|------|------|-------|------|----------------|----------------|----------------------|------------------|
|                        | G0                   | G7,5 | G15  | G22,5 | G30  | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0 × GLI <sup>3</sup> |                  |
| MS                     | 8,96                 | 7,81 | 8,49 | 8,75  | 7,79 | NS             | NS             | NS                   | 0,38             |
| PB                     | 1,17                 | 1,17 | 1,19 | 1,16  | 1,07 | NS             | NS             | NS                   | 0,06             |
| FDN                    | 4,51                 | 4,58 | 3,39 | 3,40  | 2,71 | **             | NS             | **                   | 0,22             |
| FDA                    | 1,93                 | 2,23 | 2,02 | 2,07  | 1,83 | NS             | *              | NS                   | 0,10             |
| EE                     | 0,31                 | 0,23 | 0,29 | 0,23  | 0,15 | **             | NS             | **                   | 0,02             |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle × tratamentos com glicerina. <sup>4</sup>Erro padrão da média. \* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$ . NS = Não significativo. MS=matéria seca, PB=proteína bruta, FDN= fibra em detergente neutro, FDA=fibra em detergente ácido, EE=extrato etéreo.

D'AUREA (2010), estudando o efeito da inclusão de 0, 10 ou 20% de glicerina bruta na alimentação de novilhas da raça Nelore, observou aumento no consumo de matéria seca quando foram incluídos 10% de glicerina (9,7 kg), sendo que os tratamentos controle e 20% proporcionaram consumos menores e não diferiram entre si

(8,7 e 8,0 kg, respectivamente). É interessante ressaltar que as dietas experimentais formuladas por esse autor foram confeccionadas com ingredientes oriundos da mesma fonte dos utilizados no presente estudo, porém utilizaram fêmeas da raça Nelore.

Houve efeito linear decrescente ( $P < 0,01$ ) no consumo de FDN pelos animais. A inclusão de glicerina promoveu a diminuição na ingestão de FDN independentemente da concentração utilizada, visto que o contraste controle  $\times$  glicerina foi altamente significativo. Esse resultado indica que a glicerina proporcionou seleção por parte dos animais, resultando em reduzida ingestão de FDN sem que houvesse diminuição na ingestão de MS.

O resultado do presente estudo indica que a inclusão da glicerina, em até 30% na matéria seca da dieta, não promoveu alterações desfavoráveis evitando a queda no consumo de matéria seca. Esse fato pode estar relacionado à capacidade dos microorganismos ruminais em se adaptarem ao fornecimento de glicerol, já que quanto maior o tempo de fornecimento, maior a taxa de desaparecimento do glicerol (KREHBIEL, 2008). Resultados semelhantes aos encontrados no presente estudo foram obtidos por GUNN et al. (2010), os quais trabalharam com cordeiros alimentados com até 20% de glicerina e não observaram diferenças na ingestão de matéria seca dos animais.

Houve efeito quadrático ( $P < 0,05$ ) no consumo de FDA, sendo que os menores valores foram observados no tratamento controle e no tratamento com 30% de glicerina (1,9 e 1,8 kg, respectivamente).

Com relação à ingestão de extrato etéreo, o efeito ( $P < 0,01$ ) observado é coerente, uma vez que quando se aumentou a glicerina nas dietas, concomitantemente a concentração de EE das dietas foi diminuída, visto que a glicerina possui valor ínfimo de EE em sua composição.

Apesar da grande diferença numérica observada nos parâmetros de desempenho (Tabela 4), não foi possível comprovar estatisticamente ( $P > 0,05$ ) essas modificações causadas pela inclusão de glicerina. Possivelmente isso ocorreu devido à grande variação que houve entre os dados e ao relativo baixo número de repetições utilizadas (seis por tratamento).

PARSONS et al. (2009) trabalhando com novilhas cruzadas alimentadas com 0, 2, 4, 8, 12, ou 16% de glicerina bruta em dietas contendo milho floculado observaram efeito quadrático no ganho médio diário em peso, onde os tratamentos intermediários com 2, 4 e 8% de inclusão de glicerina apresentaram as maiores médias (1,34, 1,29 e 1,25 kg, respectivamente). Esses autores identificaram efeito quadrático ( $P<0,05$ ) na eficiência alimentar, em que o melhor tratamento foi o que continha 2% de glicerina. Em contrapartida, foi observada redução no peso final quando os animais foram alimentados com as maiores doses de glicerina. A mesma equipe, em outro trabalho (SCHNEIDER, 2010) forneceu 0, 4 ou 8% de glicerina bruta para novilhas recebendo dietas contendo 60% de silagem de milho e observaram efeito linear ( $P<0,01$ ) na eficiência alimentar, a qual foi melhorando com o aumento na adição de glicerina bruta na dieta.

Tabela 4. Desempenho de bovinos alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta

| Item        | Glicerina bruta, (%) |        |        |        |        | Contrastes     |                |                      | EPM <sup>4</sup> |
|-------------|----------------------|--------|--------|--------|--------|----------------|----------------|----------------------|------------------|
|             | G0                   | G7,5   | G15    | G22,5  | G30    | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0 x GLI <sup>3</sup> |                  |
| GMD, kg/dia | 1,54                 | 1,69   | 1,75   | 1,70   | 1,44   | NS             | NS             | NS                   | 0,15             |
| PCI, kg     | 279,50               | 280,50 | 270,50 | 279,33 | 278,50 | NS             | NS             | NS                   | 4,46             |
| PCF, kg     | 413,89               | 427,62 | 423,10 | 427,34 | 403,52 | NS             | NS             | NS                   | 15,84            |
| EA, kg/kg   | 0,17                 | 0,22   | 0,21   | 0,20   | 0,19   | NS             | NS             | NS                   | 0,02             |
| CA, kg      | 6,29                 | 4,84   | 5,00   | 5,58   | 5,54   | NS             | NS             | NS                   | 0,64             |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle x tratamentos com glicerina. <sup>4</sup>Erro padrão da média. \* $P<0,05$ ; \*\* $P<0,01$ . NS = Não significativo. GMD=ganho médio diário, PCI=peso corporal inicial, PCF=peso corporal final, EA=eficiência alimentar, CA=conversão alimentar.

Em contrapartida, GUNN et al. (2010), incluindo até 45% em dietas de ovinos observou efeito linear decrescente ( $P<0,01$ ) na eficiência alimentar e no ganho médio diário, fazendo com que esses autores concluíssem que o valor máximo de inclusão de glicerina para ovinos seria 15%.

RAMOS & KERLEY (2011), incluíram até 20% de glicerina em dietas ricas em forragem ou concentrado, para bezerros e não observaram mudanças no consumo de matéria seca tampouco no desempenho dos animais, concordando com os resultados obtidos no presente estudo.

Com relação ao comportamento ingestivo, observou-se que o tempo destinado ao consumo de alimento foi influenciado pelas inclusões de glicerina bruta na dieta ( $P < 0,05$ ), uma vez que foram maiores os tempos despendidos quando se incluiu glicerina bruta na dieta (Tabela 5). Esse fato possivelmente é explicado devido à modificação física da dieta promovida pela glicerina, fazendo com que a dieta ficasse mais “úmida” e agregada.

ELAM et al. (2008), trabalharam com terminação de bovinos em confinamento e testando a substituição do milho por inclusão de 10% de glicerina na MS da dieta, também observaram maior tempo despendido com o consumo de alimento. Entretanto BARROSO et al. (2010), ao avaliarem o comportamento ingestivo de novilhas suplementadas em pasto 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 foi devido à glicerina bruta ser viscosa e que quando misturada à ração facilita a apreensão e a deglutição do suplemento quando adicionado maiores concentrações de glicerina.

Em relação ao tempo de ócio, seja total (TOT), deitado (TOD) ou em pé (TOE) a inclusão de glicerina bruta na dieta não promoveu alteração ( $P > 0,05$ ), assim como no tempo de ruminação total (TRU) e tempo de ruminando em pé (TRE) e tempo ruminando deitado (TRD). A última variável foi associada ao consumo de fibra em detergente neutro (CFDN) por MISSIO et al. (2010), ao avaliarem diferentes níveis de concentrado (22, 40, 59 e 79%) na dieta de bovinos terminados em confinamento. Os autores verificaram que o tempo ruminando deitado e de ruminação total diminuíram linearmente ( $P < 0,01$ ) com o incremento de concentrado na dieta, principalmente devido à redução linear ( $P < 0,01$ ) do consumo de FDN. Neste trabalho a média do tempo ruminando deitado (TRD), foi de 4,25 h/dia para os tratamentos que continham 7,5 e 15% de glicerina bruta na dieta e de 3,5 h/dia em média para as demais dietas.

Tabela 5. Tempos despendidos com consumo de alimento (TAL), ruminando em pé (TRE), ruminando deitado (TRD), ruminação total (TRU), ócio em pé (TOE), ócio deitado (TOD) e ócio total (TOT), por bovinos alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta

| Atividade<br>(h/dia) | Glicerina Bruta, (%) |       |       |       |       | Contrastes     |                |                      | EPM <sup>4</sup> |
|----------------------|----------------------|-------|-------|-------|-------|----------------|----------------|----------------------|------------------|
|                      | G0                   | G7,5  | G15   | G22,5 | G30   | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0 × GLI <sup>3</sup> |                  |
| TAL                  | 2,20                 | 2,70  | 2,60  | 2,80  | 2,60  | NS             | NS             | *                    | 0,80             |
| TER                  | 1,20                 | 0,80  | 0,90  | 1,00  | 0,70  | NS             | NS             | NS                   | 0,80             |
| TRD                  | 3,30                 | 4,50  | 4,00  | 3,60  | 3,60  | NS             | NS             | NS                   | 1,30             |
| TRU                  | 4,50                 | 5,30  | 4,90  | 4,60  | 4,30  | NS             | NS             | NS                   | 1,30             |
| TOE                  | 7,30                 | 5,80  | 6,70  | 7,50  | 7,30  | NS             | NS             | NS                   | 2,50             |
| TOD                  | 10,00                | 10,30 | 9,90  | 9,20  | 9,80  | NS             | NS             | NS                   | 2,50             |
| TOT                  | 17,30                | 16,10 | 16,60 | 16,70 | 17,10 | NS             | NS             | NS                   | 1,80             |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle × tratamentos com glicerina. <sup>4</sup>Erro padrão da média. \*<0,05; \*\*<0,01, NS = Não significativo.

BARROSO et al. (2010), observaram efeito quadrático ( $P < 0,01$ ) para o tempo de ruminação com valor máximo para o nível de 0,99% de inclusão de glicerina com bovinos em pastejo. Os autores sugeriram que a glicerina, em níveis mais baixos de fornecimento, provoca aumento no consumo de MS, aumentando dessa maneira o tempo de pastejo e consequentemente o tempo de ruminação.

A eficiência de alimentação, quando expressa em g MS/h, foi maior ( $P < 0,01$ ) para as dietas contendo glicerina bruta em relação à dieta controle (Tabela 6). Provavelmente a redução linear ( $P < 0,01$ ) da ingestão de FDN/h tenha contribuído bastante, uma vez que houve aumento de 49% na  $EAL_{FDN}$  entre o tratamento 0 e 30% de inclusão de glicerina. Outro fato está relacionado ao tempo destinado à alimentação, que foi maior para as dietas contendo glicerina bruta. Segundo VAN SOEST (1994) a eficiência alimentar com que o animal capta o alimento está relacionada ao tempo de consumo e ao peso específico do alimento consumido.

Houve efeito da inclusão da glicerina bruta sobre a eficiência de ruminação, expressa em g MS/h, independente da dose de glicerina bruta ministrada, porém quando expressa em g FDN/h aumentou linearmente ( $P < 0,01$ ). O aumento da  $ERU_{FDN}$  está associado ao menor consumo de fibra em detergente neutro observado no presente estudo.

Tabela 6. Eficiência de alimentação de MS (EAL) e de FDN (EAL<sub>FDN</sub>), eficiência de ruminação da dieta total (ERU) e eficiência de ruminação da FDN (ERU<sub>FDN</sub>) de bovinos alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta

| Item                        | Glicerina Bruta, (%) |      |      |       |      | Contrastes     |                |                    | EPM <sup>4</sup> |
|-----------------------------|----------------------|------|------|-------|------|----------------|----------------|--------------------|------------------|
|                             | G0                   | G7,5 | G15  | G22,5 | G30  | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0×GLI <sup>3</sup> |                  |
| EAL (gMS/h)                 | 5110                 | 3070 | 3440 | 3700  | 3540 | NS             | *              | **                 | 1,97             |
| EAL <sub>FDN</sub> (gFDN/h) | 2430                 | 1780 | 1370 | 1400  | 1230 | **             | *              | **                 | 0,68             |
| ERU (gMS/h)                 | 2400                 | 1550 | 1930 | 2010  | 2020 | NS             | NS             | *                  | 0,80             |
| ERU <sub>FDN</sub> (gFDN/h) | 1170                 | 920  | 760  | 770   | 700  | **             | NS             | **                 | 0,32             |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle × tratamentos com glicerina. <sup>4</sup>Erro padrão da média. \*<0,05; \*\*<0,01, NS = Não significativo.

O tempo de mastigação total (TMT), o número de bolos ruminais (BOL) e de mastigações merícicas (MMnd) não apresentaram diferenças com a inclusão crescente de glicerina bruta na dieta (Tabela 7), porém o número (MMnb) e o tempo (MMtb) de mastigações merícicas por bolo ruminal diminuíram linearmente (P<0,01).

Tabela 7. Tempo de mastigação total (TMT), do número de bolos ruminais (BOL), do número de mastigações merícicas por dia (MMnd), número de mastigações merícicas por bolo ruminal (MMnb) e do tempo de gasto por bolo ruminal (TM) de bovinos alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta

| Item                     | Glicerina Bruta, (%) |        |        |        |        | Contraste      |                |                    | EPM <sup>4</sup> |
|--------------------------|----------------------|--------|--------|--------|--------|----------------|----------------|--------------------|------------------|
|                          | G0                   | G7,5   | G15    | G22,5  | G30    | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0×GLI <sup>3</sup> |                  |
| TMT <sup>6</sup> (h/dia) | 6,70                 | 8,00   | 7,40   | 7,40   | 6,90   | NS             | NS             | NS                 | 1,80             |
| BOL (nº/dia)             | 258,40               | 313,40 | 309,50 | 310,80 | 305,40 | NS             | NS             | NS                 | 98,30            |
| MMnd (nº/dia)            | 14304                | 18100  | 15229  | 15747  | 13643  | NS             | NS             | NS                 | 4767,1           |
| MMnb (nº/bolo)           | 54,70                | 58,70  | 49,40  | 51,50  | 46,10  | **             | NS             | NS                 | 8,12             |
| TM (s/bolo)              | 62,40                | 61,70  | 56,70  | 54,50  | 52,30  | **             | NS             | *                  | 9,13             |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle × tratamentos com glicerina. <sup>4</sup>Erro padrão da média. \*<0,05; \*\*<0,01, NS = Não significativo.

As alterações observadas no tempo e número de mastigações se devem à glicerina ser líquida em temperatura ambiente e por ser rapidamente fermentada no rúmen, reduzindo em 50 a 70% o seu volume em 4 horas (DONKIN, 2008) e também porque substituiu o milho, o qual possui elevada densidade. Outro fator que possivelmente contribuiu para tal resultado foi a diminuição na quantidade de casca de soja e aumento de farelo de girassol nas dietas com crescente inclusão de glicerina bruta, o que também contribuiu para modificar a forma física das dietas.

MISSIO et al. (2010) atribuíram a redução no número de mastigações por bolo ruminal às características químicas das dietas, que continham quantidades crescentes de concentrado, porém embora tenham correlacionado o número de mastigações por bolo ruminal com o tempo de mastigações por bolo ruminal, este não foi influenciado ( $P>0,05$ ) pelos teores de concentrado na dieta.

## **Conclusão**

A inclusão de até 30% de glicerina bruta em dietas de bovinos da raça Nelore em terminação aumenta a eficiência de alimentação, quando expressa em g FDN/h, aumenta a eficiência de ruminação em relação à FDN, diminuindo o tempo e o número de mastigações meréricas por bolo ruminal, facilitando a ingestão dos alimentos e influenciando diretamente no tempo de alimentação, não deprimindo o consumo de matéria seca, tampouco afetando significativamente as variáveis de desempenho.

## **Referências**

BARROSO, D.S. et al. 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.

BÜRGER, P.J. et al. 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.

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.

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.

ELAM, N.A. et al. Glycerol from biodiesel production: considerations for feedlot diets. In: SOUTHWEST NUTRITION AND MANAGEMENT CONFERENCE, 23, 2008, Arizona. **Proceedings...** Arizona: The University of Arizona, 2008.

FNP Consultoria, ANUALPEC: **Anuário da Pecuária Brasileira**. São Paulo: 2011, 376p.

GOERING, H. G. & VAN SOEST, P. J. **Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications)**. Washington, Agricultural Research Service, 1970. 20 p. (Agriculture Handbook, 379).

GUNN, P.J. et al. Effects o crude glycerin on performance and carcass characteristics of finishing whether lambs. **Journal of Animal Science**, v.88, n.5, p.1771-1776, 2010.

HODGSON, J. **Grazing management: science into practice**. England: Longman Handbooks in Agriculture, 1990. 203p.

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

MISSIO, R.L. et al. Comportamento ingestivo de tourinhos terminados em confinamento, alimentados com diferentes níveis de concentrado na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.7, p.1571-1578, 2010.

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

NEIVA JUNIOR, A.P. et al. Subprodutos agroindustriais do biodiesel na alimentação de ruminantes. In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DO BIODIESEL, 2., 2007, Brasília. **Anais...** Brasília: MCT/ABIPTI, 2007.

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, n.2, p. 653-657, 2009.

PELL, A.N. & SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion in vitro. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.9, p.1063-1073, 1993.

POLLI, V.A. et al. Aspectos relativos à ruminação de bovinos e bubalinos em regime de confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.25, n.5, p.987-993, 1996.

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

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.

SAS. SAS/STAT **User's Guide**. Versão 9.1, Edição SAS Institute, Inc., Cary, NC, EUA. 2004.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos** (métodos químicos e biológicos). 3 ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 235p.

SCHENEIDER, C.J. Crude glycerin in feedlot cattle diets and as a solvent in maillard reaction processes intended for manufacturing value-added protein meals. 82f. **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia) – Kansas State University, 2010.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. London: Constock Publishing Associates, 1994. 476p.

### **CAPÍTULO 3 – GLICERINA BRUTA EM DIETAS DE BOVINOS DA RAÇA NELORE CONFINADOS: PARÂMETROS SANGUÍNEOS, CARACTERÍSTICAS QUANTITATIVAS DA CARCAÇA E QUALITATIVAS DA CARNE**

**RESUMO** – Objetivou-se neste estudo avaliar a inclusão de até 30% de glicerina bruta em dietas para bovinos da raça Nelore e seus efeitos sobre parâmetros sanguíneos, características quantitativas da carcaça e qualitativas da carne. Utilizou-se 30 bovinos da raça Nelore (277,7 kg PC e 18 meses de idade), os quais foram mantidos em confinamento por 103 dias (21 de adaptação e 82 de colheita de dados). Os animais foram divididos em blocos (PC inicial) e submetidos a um dos cinco tratamentos: G0 - controle sem adição de glicerina, G7,5 - 7,5% de glicerina na matéria seca da dieta, G15 - 15% de glicerina na matéria seca da dieta, G22,5 - 22,5% de glicerina na matéria seca da dieta e G30 - 30% de glicerina na matéria seca da dieta. Foram realizadas colheitas de sangue e este analisado quanto às concentrações séricas das enzimas AST, ALT, GGT, CK e FAL, ureia, creatinina, proteínas totais, glicose, triglicérides, colesterol, minerais, parâmetros hematológicos, e ao leucograma. Na carcaça foram avaliados PCQ, PCF, rendimento, AOL, espessura de gordura, e na carne: análise centesimal, perfil de ácidos graxos, coloração, colesterol e análise sensorial. Os dados foram analisados em blocos casualizados e foram realizadas análises de contrastes observando a significância dos modelos linear, quadrático e do tratamento controle × tratamentos com glicerina. A inclusão de até 30% de glicerina bruta em dietas para bovinos da raça Nelore confinados provoca mudanças no quadro enzimático, leucocitário e hematológico dos animais, não modifica as características da carcaça, porém algumas variáveis qualitativas da carne são melhoradas quando a glicerina bruta é introduzida, como a diminuição no teor de colesterol e melhoria no sabor da carne.

**Palavras-chave:** colesterol, coproduto, rendimento de carcaça, sangue

## **Introdução**

A pecuária brasileira necessita produzir carne de qualidade e com características que agradem aos mercados potenciais importadores deste produto, uma vez que o Brasil, apesar de ser o segundo maior exportador mundial de carne bovina, ainda tem muito a crescer nesse ramo.

As instituições de pesquisa, por conseguinte, procuram estudar os fatores ligados às alterações que ocorrem nas características desejáveis da carne e os possíveis causadores destas alterações (IGARASI et al., 2008).

Quando se introduz um novo ingrediente à dieta dos animais, além da aceitabilidade e qualidade na composição química, é importante observar o que essa ação promove quanto ao desenvolvimento corporal dos animais bem como às características químicas, nutricionais e sensoriais da carne produzida.

As características quantitativas da carcaça são essenciais no processo produtivo por estarem diretamente relacionadas à qualidade do produto final carne (SILVA et al., 2000).

O valor comercial da carne varia de acordo com seu grau de aceitabilidade pelos consumidores (MADRUGA et al., 2005), os quais utilizam critérios que, primeiramente, levam em conta, a cor do músculo e da gordura de cobertura, seguido por aspectos envolvidos no processamento, como perda de líquidos no descongelamento e na cocção e, finalmente, por aspectos como aceitabilidade e palatabilidade, maciez, sabor e suculência (COSTA et al., 2002).

Atualmente sabe-se que é possível, através da nutrição, modificar as características da carcaça e, principalmente, da carne de ruminantes, produzindo carnes de maior aceitação pelo mercado consumidor (SCOLLAN et al., 2001). Nesse sentido muitos trabalhos são desenvolvidos com o objetivo de obter um produto final mais saudável para o consumo humano, ou que, ao menos, não traga prejuízos ao valor nutricional da carne produzida em sistemas de confinamento, os quais adotam a inclusão de subprodutos da agroindústria em suas dietas.

Os parâmetros sanguíneos, por sua vez, tem sido utilizados mundialmente para avaliar o estado de saúde dos animais e, também, como indicadores de estresse (SILVA, 2006), podendo vários fatores como sexo, idade, estado fisiológico, hora do dia, umidade relativa do ar, temperatura ambiente, atividade muscular e o estado nutricional de cada animal, provocarem alterações nesses parâmetros.

Os perfis metabólicos são usados como procedimento de monitoramento rotineiro para o diagnóstico de transtornos metabólicos, deficiências derivadas da nutrição e como preventivo de transtornos subclínicos, além da pesquisa de problemas de saúde e de desempenho de um rebanho (DUFFIELD & LEBLANC, 2009). A composição bioquímica do sangue reflete de maneira confiável o equilíbrio entre o ingresso, o egresso e a metabolização dos nutrientes no tecido animal. Este equilíbrio chama-se homeostase, e neste processo, complexos mecanismos metabólico-hormonais estão envolvidos. A quebra da homeostase leva à redução do desempenho zootécnico e, dependendo do grau de desequilíbrio, até à doenças da produção (GONZÁLEZ, 2000).

Desequilíbrios entre os nutrientes podem provocar doenças subclínicas que são de difícil percepção, limitando a produção de modo persistente. Vários pesquisadores tem sugerido que a alimentação de bovinos com dietas de alta concentração de grãos e baixo teor de forragem está associada com a alta incidência de doenças metabólicas como a acidose ruminal, laminite (NOCEK, 1997) e fígado gorduroso (AMETAJ, 2005), além de outros transtornos como abscessos do fígado (NAGARAJA & LECHTENBERG, 2007) e deslocamento de abomaso (ANDERSEN, 2003). Estas enfermidades causam transtornos metabólicos que podem ser identificados através da patologia clínica veterinária com o uso de exames laboratoriais de sangue, como a análise do hemograma e da bioquímica sérica, além do exame físico dos animais.

Com isso, objetivou-se neste estudo avaliar a inclusão de até 30% de glicerina bruta em dietas para bovinos da raça Nelore em terminação e seu efeito sobre as características quantitativas da carcaça e qualitativas da carne, além dos parâmetros sanguíneos desses animais.

## Material e métodos

O experimento foi conduzido no confinamento experimental pertencente ao Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/ Unesp, Câmpus de Jaboticabal, o qual possui 30 baias individuais semicobertas, com piso concretado e com cochos individuais e bebedouros a cada duas baias. As análises de sangue foram realizadas no Laboratório do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária e as análises da carne foram realizadas do Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal pertencente ao Departamento de Tecnologia, ambos na mesma instituição supramencionada.

Foram utilizados 30 bovinos da raça Nelore, não castrados, com peso corporal de 277,7 kg e aproximadamente 18 meses de idade, os quais foram distribuídos em um delineamento de blocos casualizados com 5 tratamentos e 6 repetições.

As cinco dietas experimentais isoproteicas (12,2% PB/MS) e isoenergéticas (2,5 Mcal de EM/kg MS) foram formuladas de acordo com o NRC (1996) e fornecidas na relação volumoso:concentrado 30:70 e denominadas de: Tratamento G0 - controle sem adição de glicerina, Tratamento G7,5 - 7,5% de glicerina na matéria seca da dieta, Tratamento G15 - 15% de glicerina na matéria seca da dieta, Tratamento G22,5 - 22,5% de glicerina na matéria seca da dieta e Tratamento G30 - 30% de glicerina na matéria seca da dieta.

A glicerina utilizada possuía 86% de glicerol, 95% de matéria seca, cerca de 6% de sais e menos de 0,01% de metanol. O volumoso utilizado foi a silagem de milho e o concentrado composto por milho em grão, casca de soja, farelo de girassol. O sal mineral foi fornecido à vontade nos cochos.

Na Tabela 1 está demonstrada a composição químico-bromatológica dos ingredientes utilizados na formulação das dietas e na Tabela 2 estão as porcentagens dos ingredientes e a estimativa da composição dos tratamentos.

Tabela 1. Matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e energia metabolizável (EM) dos alimentos utilizados na formulação das dietas experimentais

| Ingredientes           | MS*    | PB*   | EE*  | FDN*  | FDA*  | EM <sup>1</sup> |
|------------------------|--------|-------|------|-------|-------|-----------------|
|                        | (%)    | % MS  |      |       |       | Mcal/kg MS      |
| Silagem de milho       | 30,92  | 7,26  | 3,16 | 55,41 | 30,63 | 2,21            |
| Milho                  | 87,94  | 9,11  | 4,07 | 13,98 | 4,08  | 3,10            |
| Farelo de girassol     | 91,10  | 31,50 | 1,50 | 42,36 | 34,90 | 2,17            |
| Glicerina <sup>2</sup> | 80,00  | 0,00  | 0,50 | 0,00  | 0,00  | 3,00            |
| Casca de soja          | 89,80  | 11,65 | 1,60 | 68,40 | 50,52 | 2,42            |
| Sal comum              | 100,00 | 0,00  | 0,00 | 0,00  | 0,00  | 0,00            |
| Calcário calcítico     | 100,00 | 0,00  | 0,00 | 0,00  | 0,00  | 0,00            |
| Fosfato bicálcico      | 100,00 | 0,00  | 0,00 | 0,00  | 0,00  | 0,00            |

\*Análises realizadas no Laboratório de Ingredientes e Gases Poluentes da Unidade Animal de Estudos Digestivos e Metabólicos da FCAV/Unesp. <sup>1</sup>Valores tabelados. <sup>2</sup>Valor estimado.

Tabela 2. Porcentagem dos ingredientes e estimativa da composição bromatológica dos tratamentos experimentais (% MS)

| Ingredientes       | Tratamentos                |                   |                  |                    |                  |
|--------------------|----------------------------|-------------------|------------------|--------------------|------------------|
|                    | G0 <sup>1</sup>            | G7,5 <sup>2</sup> | G15 <sup>3</sup> | G22,5 <sup>4</sup> | G30 <sup>5</sup> |
| Silagem de milho   | 30,00                      | 30,00             | 30,00            | 30,00              | 30,00            |
| Milho              | 35,00                      | 25,50             | 18,00            | 12,50              | 5,00             |
| Casca de soja      | 19,20                      | 18,05             | 14,55            | 8,90               | 5,45             |
| Farelo de girasol  | 14,60                      | 17,8              | 21,30            | 24,90              | 28,4             |
| Glicerina          | 0,00                       | 7,50              | 15,00            | 22,50              | 30,00            |
| Sal comum          | 0,50                       | 0,50              | 0,50             | 0,50               | 0,50             |
| Calcário calcítico | 0,70                       | 0,65              | 0,55             | 0,70               | 0,65             |
| Fosfato bicálcico  | 0,00                       | 0,10              | 0,10             | 0,00               | 0,00             |
| <b>Total</b>       | 100,00                     | 100,00            | 100,00           | 100,00             | 100,00           |
| <b>Nutrientes</b>  | <b>Composição estimada</b> |                   |                  |                    |                  |
| PB (% MS)          | 12,20                      | 12,21             | 12,22            | 12,20              | 12,21            |
| EM (Mcal/kg MS)    | 2,53                       | 2,52              | 2,52             | 2,53               | 2,52             |
| EE (%)             | 2,90                       | 2,58              | 2,31             | 2,09               | 1,81             |
| FDN (%)            | 40,83                      | 40,07             | 38,11            | 35,01              | 33,08            |
| FDA (%)            | 25,41                      | 25,56             | 24,71            | 22,89              | 22,06            |
| HEM (%)            | 15,42                      | 14,51             | 13,41            | 12,12              | 11,02            |
| Ca (%)             | 0,56                       | 0,56              | 0,55             | 0,57               | 0,55             |
| P (%)              | 0,32                       | 0,32              | 0,35             | 0,34               | 0,34             |

<sup>1</sup>Tratamento controle sem adição de glicerina; <sup>2</sup>Adição de 7,5% de glicerina na MS da dieta; <sup>3</sup>Adição de 15% de glicerina na MS da dieta; <sup>4</sup>Adição de 22,5% de glicerina na MS da dieta; <sup>5</sup>Adição de 30,0% de glicerina na MS da dieta.

O período total de confinamento foi de 103 dias, sendo os primeiros 21 dias destinados à adaptação dos animais ao manejo, às instalações e à dieta e 82 dias de período experimental propriamente dito. Os animais foram pesados no início da adaptação para distribuí-los aos blocos, no início do período de avaliação, a cada 28 dias, bem como ao final do experimento, sempre após jejum alimentar de 14 horas, para acompanhamento da evolução do peso e do ganho em peso diário.

A alimentação foi ofertada duas vezes ao dia, às 8 e 18h. O concentrado e o volumoso foram pesados separadamente e misturados à glicerina no momento do fornecimento, em cada uma das refeições diárias. Antes da refeição da manhã eram pesadas e colhidas 10% das sobras de cada animal com a finalidade de ajustar a oferta de alimentos.

Os animais foram submetidos às colheitas de sangue, após 14 horas de jejum, através de punção da veia coccígea, utilizando-se de tubos Vacutainer<sup>®</sup>, no primeiro dia do período experimental, após quatro e oito semanas da primeira colheita e no dia anterior ao abate dos animais, totalizando quatro colheitas no período de 103 dias de confinamento.

As amostras foram analisadas, com auxílio de kits comerciais, quanto às concentrações séricas das enzimas aspartato amino transferase (AST), alanina amino transferase (ALT), fosfatase alcalina (FAL), gama glutamil transferase (GGT) e creatina quinase (CK), ureia, creatinina, proteínas totais, glicose, triglicérides, colesterol, minerais (sódio, cálcio, potássio e magnésio), parâmetros hematológicos (hemácias, hematócrito, hemoglobina e plaquetas), e ao leucograma (leucócitos totais, neutrófilos segmentados, bastonetes, monócitos, linfócitos, basófilos e eosinófilos).

Após os 103 dias de confinamento os animais foram levados a um frigorífico comercial, onde foram atordoados por concussão cerebral, utilizando-se de pistola de ar comprimido e posteriormente foram sangrados por secção da jugular.

No momento do abate foram obtidos os pesos da carcaça quente com os quais foi possível calcular o rendimento de carcaça, dividindo-se pelo peso ao abate. Após resfriamento por 24 horas à temperatura de 4°C, as carcaças foram novamente pesadas (peso da carcaça fria). Posteriormente foi retirada da meia carcaça esquerda a

seção HH, compreendida entre as 9<sup>a</sup>, 10<sup>a</sup> e 11<sup>a</sup> costelas, para a determinação indireta da composição da carcaça (HANKINS & HOWE, 1946).

Foi realizada uma secção entre a 12<sup>a</sup> e 13<sup>a</sup> costelas e o músculo *Longissimus* foi exposto para a medição da área de olho de lombo, que foi desenhada em papel vegetal e medida através do Sistema de Análise de Imagem Delta-T Devices do Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária da Unesp/Jaboticabal. A espessura de gordura de cobertura foi mensurada no terceiro quarto do músculo a partir da coluna vertebral, perpendicularmente ao músculo *Longissimus*, com o auxílio de uma régua de precisão (TULIO, 2004).

Após as medidas, foram retiradas quatro amostras do contrafilé na altura da 12<sup>a</sup> costela, com aproximadamente 2,5 cm de espessura e foram reservadas para a determinação das características qualitativas da carne.

Após um curto período, as amostras do músculo *Longissimus* foram descongeladas para que as análises qualitativas das mesmas fossem realizadas. Estas foram pré-secas por 72 horas em estufa com circulação forçada de ar à 55°C. As amostras foram pesadas antes e após a pré-secagem para determinação da 1<sup>a</sup> matéria seca (ASA). A 2<sup>a</sup> matéria seca (ASE) foi obtida após secagem em estufa à 105°C e os teores de proteína bruta, de extrato etéreo e de matéria mineral foram determinados conforme metodologias descritas por SILVA & QUEIROZ (2002).

Nas amostras colhidas do *Longissimus*, também foram analisadas outras características quantitativas como: cor da carne e da gordura, capacidade de retenção de água, perdas por cocção, força de cisalhamento, teores de colesterol da carne e da gordura, bem como o perfil de ácidos graxos da carne e da gordura e análise sensorial.

As determinações da cor da carne e da gordura foram realizadas com o uso de um colorímetro da marca Minolta Chromer Meter CR-300, o qual utiliza o sistema CIELAB (L, a\*, b\*), onde L – luminosidade, a\* - intensidade de vermelho e b\* - intensidade de amarelo. Trinta minutos antes da realização das avaliações em pontos diferentes da carne foi realizado um corte transversal ao músculo, para exposição da mioglobina ao oxigênio.

A capacidade de retenção de água 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, e posteriormente foram pesadas para quantificar a perda de água e o resultado expresso em porcentagem. Os bifes obtidos do contrafilé foram assados em forno a gás à temperatura de 175°C, até atingirem 75°C no seu centro geométrico. Os pesos dos bifes antes e depois da cocção foram utilizados para o cálculo das perdas totais, enquanto os pesos das bandejas, antes e após a cocção foram obtidos para a determinação das perdas por gotejamento. Após o resfriamento dos bifes assados, foram retirados oito cilindros, utilizando-se um vazador com 2 cm de diâmetro, para determinar a força necessária para cortar transversalmente cada cilindro em texturômetro Texture Analyzer TA – XT2i, acoplado à lâmina Warner-Bratzler. Foi calculada a média de força de corte dos cilindros para representar a força de cisalhamento de cada bife. Os valores foram expressos em  $\text{kgf/cm}^2$  (LYON et al., 1998).

Para a análise sensorial por painel de degustação, os bifes restantes de cada amostra foram assados em forno elétrico à temperatura de 175°C, até atingirem 75°C no seu centro geométrico e, após seu resfriamento, foram cortados em cubos para serem oferecidos a 9 avaliadores treinados, os quais degustaram as amostras por duas vezes. Nesse painel foram avaliados os atributos aparência, odor, sabor, maciez, suculência, teor de gordura e aceitação global. As notas variaram de 1 a 9, sendo 1 desaprovação máxima e 9 aprovação máxima.

Das amostras congeladas, foram retiradas seções transversais do músculo, com 1cm de espessura, que foram liofilizadas e posteriormente moídas, com gelo seco.

A extração dos ácidos graxos foi realizada conforme metodologia de BLIGH & DYER (1959) com as seguintes modificações. A gordura foi extraída com uma mistura de clorofórmio-metanol. Cerca de 3g de amostra liofilizada foram transferidas para um *erlenmeyer* de 125 mL, onde foram adicionados 10 mL de clorofórmio, 20 mL de etanol e 8 mL de água destilada e os frascos foram agitados por 30 minutos em mesa agitadora. Após a agitação, foram adicionados 10 mL de clorofórmio e 10 mL de sulfato de sódio a 1,5%, e os frascos agitados novamente por 2 minutos. O material foi filtrado, em papel filtro quantitativo, para tubo falcon de 50 mL. Após a separação das camadas,

a superior, metanólica, foi descartada. Do filtrado restante, 10 mL foram transferidos para béquer com capacidade para 50 mL, com tara prévia. O béquer foi levado para estufa de circulação forçada de ar a 55°C, para evaporação do solvente, por 24 horas, e após, foi resfriado em dessecador e pesado. Pela diferença dos pesos do béquer, foi calculado o teor de lipídios da amostra.

Para a transesterificação dos triglicerídios, aproximadamente 50 mg da matéria lipídica extraída foram transferidos para tubo falcon de 15 mL, onde foram adicionados 2 mL de n-heptano. A mistura foi agitada até a completa dissolução da gordura e, então, 2 mL de KOH 2 mol/L em metanol foram adicionados. Essa mistura foi agitada vigorosamente por aproximadamente 5 minutos. Após a separação das fases, 1 mL da fase superior (heptano e ésteres metílicos de ácidos graxos) foram transferidos para frascos *ependorf* de 1,5 mL. Os frascos foram hermeticamente fechados, protegidos da luz e armazenados em congelador (-18°C), para posterior análise cromatográfica.

As determinações qualitativas dos 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.

Os teores de colesterol da carne e da gordura de cobertura foram determinados conforme metodologias descritas por AL HASANAI et al. (1993).

Os dados foram analisados em blocos casualizados, com cinco tratamentos e seis repetições utilizando o procedimento GLM (SAS System, versão 9.1). Para as análises de sangue foi incluído o fator “tempo de colheita” ao modelo. Foram realizadas

análises de contrastes, observando a significância dos modelos linear, quadrático e do tratamento controle × tratamentos com glicerina.

## Resultados e discussão

A inclusão de glicerina bruta provocou efeito linear decrescente sobre as concentrações séricas da enzima creatina quinase (CK) ( $P < 0,05$ ), reduziu as concentrações séricas das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) ( $P < 0,01$ ). No entanto, não houve efeito dos tratamentos sobre as concentrações séricas das enzimas gama glutamiltransferase (GGT) e fosfatase alcalina (FAL) (Tabela 3).

A enzima CK, que é um indicador sensível e específico da lesão muscular em animais domésticos, apresentou valor médio de 363,20 U/L, valor este abaixo de 500 U/L, que é o valor considerado normal para animais em exercício moderado (HODGSON, 1994). Apesar dos animais serem mantidos em confinamento e em baias individuais, esse valor ocorreu, provavelmente, devido ao estresse dos animais durante as colheitas de sangue, já que estes foram manejados em tronco de contenção.

No presente estudo, o valor médio encontrado para a enzima GGT foi de 28,5 U/L, sugerindo que a glicerina poderia ter proporcionado alterações hepáticas nos animais. Entretanto, como os animais que receberam a dieta controle apresentaram média semelhante aos que receberam dietas com adição de glicerina, essas alterações hepáticas não devem ser atribuídas aos tratamentos estudados, mas sim pelo fato dos animais terem recebido dietas com 70% de concentrado, podendo ter alterado o metabolismo do órgão.

Os valores encontrados para as enzimas AST e FAL diferem dos encontrados por OLIVEIRA et al. (2005) ao trabalharem com bovinos mestiços ingerindo 40% de polpa cítrica na MS da dieta, que foram de 14,65 a 24,10 U/L e 46,15 a 190,02 U/L, respectivamente. Porém, as médias encontradas para estas enzimas neste trabalho

estão dentro do sugerido como normal por KANEKO et al. (2008), que é de 78 a 132 U/L e 0 a 488 U/L, respectivamente.

Tabela 3. Concentrações das enzimas AST, ALT, GGT, CK e ALP de bovinos alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta

| Item <sup>10</sup> | Glicerina bruta, (%) |       |       |       |       | Média | Contrastes     |                |                     | EPM <sup>4</sup> |
|--------------------|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|----------------|----------------|---------------------|------------------|
|                    | G0                   | G7,5  | G15   | G22,5 | G30   |       | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0× GLI <sup>3</sup> |                  |
| AST <sup>5</sup>   | 74,0                 | 66,6  | 60,2  | 67,9  | 59,7  | 65,7  | NS             | NS             | **                  | 14,10            |
| ALT <sup>6</sup>   | 26,9                 | 21,6  | 22,5  | 20,3  | 20,5  | 22,3  | **             | **             | **                  | 3,80             |
| GGT <sup>7</sup>   | 26,4                 | 23,6  | 24,9  | 44,9  | 22,9  | 28,5  | NS             | NS             | NS                  | 41,51            |
| CK <sup>8</sup>    | 440,4                | 381,8 | 355,9 | 417,7 | 220,4 | 363,2 | *              | NS             | NS                  | 233,57           |
| FAL <sup>9</sup>   | 260,1                | 230,1 | 259,2 | 198,7 | 219,9 | 233,0 | NS             | NS             | NS                  | 116,73           |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle × tratamentos com glicerina. <sup>4</sup>Erro padrão da média.

<sup>5</sup>Aspartato aminotransferase. <sup>6</sup>Alanina aminotransferase. <sup>7</sup>Gama glutamil transferase. <sup>8</sup>Creatina quinase.

<sup>9</sup>Fosfatase alcalina, <sup>10</sup>U/L. \* <0,05; \*\*<0,01, NS=Não significativo.

Não houve efeito ( $P>0,05$ ) dos tratamentos sobre as concentrações séricas de ureia, porém foi observado efeito da adição de glicerina sobre as concentrações de creatinina, independente da concentração utilizada, uma vez que o contraste 0 × GLI foi significativo (Tabela 4).

Usualmente, os valores de ureia e creatinina são indicados para a avaliação da função renal dos animais domésticos (KANEKO et al., 2008). Em ruminantes, as concentrações de ureia sanguínea são afetadas pelo nível nutricional, sendo essa, um indicador sensível e imediato da ingestão de proteínas (GONZÁLEZ & SCHEFFER, 2003).

Segundo WITTEWER (2000) a redução da ingestão de energia age inversamente na concentração de amônia ruminal. Isto ocorre devido à diminuição da síntese proteica microbiana, elevando a concentração de ureia sanguínea. Esperava-se que a alta disponibilidade de energia proporcionada pela inclusão de glicerina bruta às dietas causasse diminuição na concentração de ureia sanguínea, o que não aconteceu neste estudo.

Os níveis séricos de creatinina refletem a taxa de filtração renal, de forma que níveis altos indicam deficiência na funcionalidade renal (GONZÁLEZ & SHEFFER,

2003). O valor sérico médio encontrado para concentração de creatinina está dentro do intervalo sugerido como normal por KANEKO et al. (2008), que é de 1,0 a 2,0 mg/dL, porém os tratamentos que receberam adição de glicerina obtiveram valores inferiores ao que não recebeu glicerina. Portanto, pode-se inferir que os tratamentos não influenciaram de maneira negativa a funcionalidade renal, porém a adição de glicerina pode ter diminuído discretamente o metabolismo renal.

Tabela 4. Concentrações séricas de ureia, creatinina e proteínas totais de bovinos alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta

| Item               | Glicerina bruta, (%) |       |       |       |       | Média | Contrastes     |                |                      | EPM <sup>4</sup> |
|--------------------|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|----------------|----------------|----------------------|------------------|
|                    | G0                   | G7,5  | G15   | G22,5 | G30   |       | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0 x GLI <sup>3</sup> |                  |
| UREIA <sup>5</sup> | 22,71                | 18,14 | 23,49 | 22,00 | 21,54 | 21,54 | NS             | NS             | NS                   | 5,10             |
| CREA <sup>6</sup>  | 2,04                 | 1,85  | 1,84  | 2,03  | 1,85  | 1,92  | NS             | NS             | *                    | 0,23             |
| PT <sup>7</sup>    | 6,67                 | 6,56  | 6,70  | 6,97  | 6,63  | 6,71  | NS             | NS             | NS                   | 1,12             |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle × tratamentos com glicerina. <sup>4</sup>Erro padrão da média. <sup>5</sup>mmol/L.

<sup>6</sup>Creatinina (mg/dL). <sup>7</sup>Proteínas Totais (g/dL). \* <0,05; \*\*<0,01, NS=Não significativo.

Não houve efeito dos tratamentos sobre as concentrações séricas de proteínas totais ( $P>0,05$ ). A diminuição das proteínas totais no sangue está relacionada com deficiência proteica na alimentação, descartadas causas patológicas, o que não foi o caso do presente estudo.

Considerando-se o metabolismo energético, não houve efeito ( $P>0,05$ ) dos tratamentos sobre as concentrações séricas de glicose, triglicérides e colesterol (Tabela 5), porém em todos os tratamentos foi observado quadro de hiperglicemia, uma vez que os valores obtidos para glicose foram superiores aos considerados normais pela literatura, que está no intervalo 71,9 a 76,5 mg/dL (POGLIANI & BIRGEL JÚNIOR, 2007).

A hiperglicemia encontrada pode ter sido devido às alterações geradas na microbiota ruminal pelas dietas, culminando em maior produção de ácido propiônico e, conseqüentemente, maior produção de glicose pelo fígado. Porém, não se pode atribuir essas alterações somente à adição de glicerina, pois no tratamento controle também foi evidenciado tal efeito. CHUNG et al. (2007) relataram que o fornecimento de glicerina

para vacas leiteiras aumenta a concentração de glicose circulante e que esse achado é de grande importância para animais especializados em produção de carne, uma vez que a glicose é o maior contribuidor em unidades acetil para lipogênese e para gordura intramuscular (SMITH & CROUSE, 1984). Vale ressaltar que, no presente estudo, a colheita de sangue para análise de glicose foi realizada em horário único, não se levando em consideração a curva da glicose ao longo do dia.

A ingestão de dietas com alto nível de concentrado (mais que 70%) propicia aumento da produção energética devido às alterações na fermentação ruminal e, conseqüentemente, maior produção de ácidos graxos. Quando em excesso, há aumento nas concentrações séricas de triglicérides, o que pode levar a ocorrências de patologias, como a lipidose hepática, o que não foi o caso deste estudo.

De acordo com GONZÁLEZ & SILVA (2006) 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, tireoidiana e adrenal. Portanto, como não houve modificações nas concentrações de colesterol sérico, pode-se concluir que não houve alterações hepáticas e/ou tireoidianas suficientes para serem detectadas.

Tabela 5. Concentrações séricas de glicose, triglicérides e colesterol de bovinos alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta

| Item <sup>8</sup> | Glicerina bruta, (%) |       |       |       |       | Média | Contrastes     |                |                      | EPM <sup>4</sup> |
|-------------------|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|----------------|----------------|----------------------|------------------|
|                   | G0                   | G7,5  | G15   | G22,5 | G30   |       | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0 × GLI <sup>3</sup> |                  |
| GLI <sup>5</sup>  | 96,20                | 93,51 | 92,34 | 97,07 | 99,96 | 95,73 | NS             | NS             | NS                   | 20,45            |
| TRIG              | 17,18                | 15,26 | 17,52 | 17,35 | 18,56 | 17,16 | NS             | NS             | NS                   | 5,72             |
| COL <sup>7</sup>  | 128,8                | 131,7 | 146,9 | 109,6 | 101,3 | 123,8 | NS             | NS             | NS                   | 61,36            |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle × tratamentos com glicerina. <sup>4</sup>Erro padrão da média. <sup>5</sup>Glicose. <sup>6</sup>Triglicérides. <sup>7</sup>Colesterol. <sup>8</sup>mg/dL. \* <0,05; \*\*<0,01; NS=Não significativo.

Também não houve efeito ( $P>0,05$ ) da inclusão de glicerina sobre as concentrações séricas dos minerais (Tabela 6).

Os minerais séricos estão muito relacionados ao metabolismo dos animais e atuam principalmente no transporte ativo de nutrientes, regulação do equilíbrio ácido-

básico, controle do equilíbrio hídrico, regulação metabólica, transmissão de impulsos nervosos, entre outros mecanismos do metabolismo animal.

Embora a glicerina contenha sódio na sua composição somada ao 0,5% de sódio incluído às dietas, os níveis de ingestão não foram abusivos, não provocando danos à saúde animal, tampouco prejuízos no consumo e desempenho.

Houve hipocalemia, comparando-se o valor sérico de potássio encontrado com o intervalo sugerido como normal por KANEKO et al. (2008), que é de 10 a 45 mmol/L. A hipocalemia pode ocorrer nos casos de intussuscepção do intestino e deslocamento de abomaso (FREITAS et al., 2010; MARQUES et al., 2001), entre outras patologias que podem ocorrer devido à alta ingestão de grãos na dieta. Porém, as dietas estudadas causaram alteração no sódio, cálcio e potássio sérico, mas não suficientes para desencadear síndromes metabólicas graves, que poderiam causar prejuízos à saúde e desempenho animal.

Um excesso de potássio poderia inibir a absorção de magnésio e levar até a hipomagnesemia. Esta é configurada quando os níveis de magnésio estão abaixo de 1,75 mg/dL, e os sintomas aparecem quando os níveis caem a 1,0 mg/dL (GONZÁLEZ, 2000), situação que não foi evidenciada neste estudo. Pelo contrário, houve hipocalemia e aumento das concentrações de magnésio.

Tabela 6. Concentrações séricas de cálcio, sódio, potássio e magnésio de bovinos alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta

| Item            | Glicerina bruta, (%) |        |        |        |        | Média  | Contrastes     |                |                      | EPM <sup>4</sup> |
|-----------------|----------------------|--------|--------|--------|--------|--------|----------------|----------------|----------------------|------------------|
|                 | G0                   | G7,5   | G15    | G22,5  | G30    |        | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0 x GLI <sup>3</sup> |                  |
| Ca <sup>5</sup> | 13,45                | 14,05  | 15,10  | 13,65  | 13,90  | 14,00  | NS             | NS             | NS                   | 6,71             |
| Na <sup>6</sup> | 160,43               | 156,65 | 151,52 | 155,72 | 151,65 | 155,24 | NS             | NS             | NS                   | 0,13             |
| K <sup>7</sup>  | 5,87                 | 5,67   | 5,51   | 6,32   | 5,68   | 5,81   | NS             | NS             | NS                   | 1,66             |
| Mg <sup>8</sup> | 2,40                 | 2,30   | 2,20   | 2,40   | 2,20   | 2,30   | NS             | NS             | NS                   | 0,08             |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle x tratamentos com glicerina. <sup>4</sup>Erro padrão da média. <sup>5</sup>Cálcio (mg/dL). <sup>6</sup>Sódio (mmol/L). <sup>7</sup>Potássio (mmol/L). <sup>8</sup>Magnésio (mg/dL). \*<0,05; \*\*<0,01, NS=Não significativo.

Portanto, as alterações encontradas no metabolismo mineral dos animais não são suficientes para se afirmar que houve prejuízos aos animais, pois estes não

apresentaram sinais clínicos que evidenciassem transtornos metabólicos. Pode-se inferir que a associação entre dieta de alto grão com adição da glicerina pode ter alterado discretamente o metabolismo hepático e renal dos animais, causando discretas alterações nos valores séricos dos minerais estudados, porém isso não interferiu no desempenho dos animais.

No quadro eritrocitário somente houve efeito linear decrescente ( $P<0,01$ ) da inclusão de glicerina sobre a concentração de hemoglobina (Tabela 7). Não houve efeito dos tratamentos ( $P>0,05$ ) sobre as concentrações de hemácias e hematócrito. Foi observado efeito linear crescente ( $P<0,01$ ) dos tratamentos sobre a contagem de plaquetas.

Tabela 7. Concentrações de hemácias, hemoglobina, hematócrito e plaquetas de bovinos alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta

| Item             | Glicerina bruta, (%) |       |       |       |       | Média | Contrastes     |                |                    | EPM <sup>4</sup> |
|------------------|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|----------------|----------------|--------------------|------------------|
|                  | G0                   | G7,5  | G15   | G22,5 | G30   |       | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0×GLI <sup>3</sup> |                  |
| HE <sup>5</sup>  | 8,54                 | 8,27  | 8,38  | 8,34  | 8,24  | 8,35  | NS             | NS             | NS                 | 1,03             |
| HG <sup>6</sup>  | 12,87                | 12,03 | 12,50 | 12,02 | 10,92 | 12,06 | **             | NS             | *                  | 1,29             |
| HT <sup>7</sup>  | 39,10                | 34,50 | 36,61 | 36,83 | 36,95 | 36,74 | NS             | NS             | NS                 | 6,37             |
| PLA <sup>8</sup> | 203,8                | 257,5 | 278,8 | 309,4 | 294,5 | 270,3 | **             | NS             | *                  | 112,5            |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle × tratamentos com glicerina. <sup>4</sup>Erro padrão da média. <sup>5</sup>Hemácias ( $\times 10^6/\mu\text{L}$ ). <sup>6</sup>Hemoglobina (g/dL). <sup>7</sup>Hematócrito (%). <sup>8</sup>Plaquetas ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ). \* $<0,05$ ; \*\* $<0,01$ ; NS=Não significativo.

Pode-se assumir que os animais não apresentaram o quadro de anemia, pois não foi observada a redução do hematócrito, número de eritrócitos ou da concentração de hemoglobina dos animais em nenhum dos tratamentos experimentais, quando comparados aos valores sugeridos como normais pela literatura (FELDMAN et al., 2000; JAIN, 1993; LEE et al., 1974).

Apesar de ter sido evidenciado aumento no número de plaquetas com o aumento da concentração de glicerina, não houve trombocitose, pois os valores não ultrapassaram os limites sugeridos como normais pela literatura (KEER, 2003). Sendo assim, o aumento das plaquetas pode ter sido devido às alterações metabólicas

causadas pela alta ingestão de concentrado associado à glicerina, podendo ter ocorrido maior atividade medular e/ou esplênica.

Foi observado efeito linear crescente ( $P<0,01$ ) da adição de glicerina sobre as concentrações de leucócitos totais, e efeito linear decrescente ( $P<0,01$ ) sobre a concentração de monócitos (Tabela 8).

Não houve efeito dos tratamentos ( $P>0,05$ ) sobre as concentrações sanguíneas de basófilos. Quanto aos eosinófilos e linfócitos, foi observado efeito linear crescente ( $P<0,1$  e  $P<0,05$ , respectivamente) e as concentrações de neutrófilos bastonetes não foram alteradas ( $P>0,05$ ) com a inclusão de glicerina.

Tabela 8. Concentrações de leucócitos totais, neutrófilos segmentados e bastonetes, monócitos, linfócitos, basófilos e eosinófilos de bovinos alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta

| Item<br>( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ) | Glicerina bruta, (%) |      |      |       |      | Média | Contrastes     |                |                      | EPM <sup>11</sup> |
|---------------------------------------|----------------------|------|------|-------|------|-------|----------------|----------------|----------------------|-------------------|
|                                       | G0                   | G7,5 | G15  | G22,5 | G30  |       | L <sup>8</sup> | Q <sup>9</sup> | 0x GLI <sup>10</sup> |                   |
| LT <sup>1</sup>                       | 8,17                 | 8,57 | 8,68 | 8,62  | 9,86 | 8,78  | **             | NS             | **                   | 2,62              |
| NS <sup>2</sup>                       | 1,54                 | 1,55 | 1,72 | 1,59  | 2,17 | 1,71  | NS             | NS             | NS                   | 1,60              |
| NB <sup>3</sup>                       | 0,05                 | 0,02 | 0,02 | 0,11  | 0,02 | 0,04  | NS             | NS             | NS                   | 0,10              |
| MON <sup>4</sup>                      | 0,07                 | 0,09 | 0,04 | 0,02  | 0,02 | 0,05  | **             | NS             | NS                   | 0,09              |
| LINF <sup>5</sup>                     | 6,10                 | 6,44 | 6,51 | 6,54  | 6,97 | 6,51  | *              | NS             | NS                   | 2,25              |
| EOS <sup>6</sup>                      | 0,33                 | 0,40 | 0,38 | 0,35  | 0,70 | 0,43  | **             | NS             | NS                   | 0,51              |
| BAS <sup>7</sup>                      | -                    | -    | -    | -     | -    | -     | -              | -              | -                    | -                 |

<sup>1</sup>Leucócitos totais. <sup>2</sup>Neutrófilos segmentados. <sup>3</sup>Neutrófilos bastonetes. <sup>4</sup>Monócitos. <sup>5</sup>Linfócitos. <sup>6</sup>Basófilos; <sup>7</sup>Eosinófilos. <sup>8</sup>Linear. <sup>9</sup>Quadrático. <sup>10</sup>Tratamento controle x tratamentos com glicerina. <sup>11</sup>Erro padrão da média. \* $<0,05$ ; \*\* $<0,01$ ; NS=Não significativo.

Além dos efeitos sobre a contagem de leucócitos totais e neutrófilos segmentados, foi evidenciado efeito linear decrescente sobre as concentrações de monócitos, que pode ser explicado devido à maior ação de órgãos hematopoiéticos, como o fígado, porém não suficiente para que ocorresse monocitose.

As dietas proporcionaram alterações metabólicas discretas, mas não suficientes para causar prejuízos à saúde e ao desempenho dos animais deste estudo.

Não houve efeito ( $P>0,05$ ) da adição de glicerina sobre a maioria das características de carcaça avaliadas (Tabela 9). A única característica que foi alterada

com a inclusão de glicerina, independentemente da concentração, foi a porcentagem de gordura estimada da carcaça ( $P<0,05$ ).

MACH et al. (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 bruta na dieta de novilhas da raça Nelore.

Tabela 9. Características da carcaça de bovinos alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta

| Item                  | Glicerina bruta, (%) |        |        |        |        | Contrastes     |                |                      | EPM <sup>4</sup> |
|-----------------------|----------------------|--------|--------|--------|--------|----------------|----------------|----------------------|------------------|
|                       | G0                   | G7,5   | G15    | G22,5  | G30    | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0 × Gli <sup>3</sup> |                  |
| PCQ, kg               | 219,50               | 225,17 | 227,50 | 231,92 | 214,00 | NS             | NS             | NS                   | 7,59             |
| PCF, kg               | 217,83               | 223,83 | 226,42 | 230,92 | 213,25 | NS             | NS             | NS                   | 7,67             |
| Perda no resfriamento | 1,67                 | 1,33   | 1,08   | 1,00   | 0,75   | NS             | NS             | NS                   | 0,34             |
| RC, %                 | 53,05                | 52,70  | 53,87  | 54,32  | 53,03  | NS             | NS             | NS                   | 0,56             |
| AOL, cm <sup>2</sup>  | 65,17                | 63,33  | 64,83  | 63,67  | 64,50  | NS             | NS             | NS                   | 8,14             |
| GSUB, mm              | 5,33                 | 5,67   | 5,67   | 7,67   | 4,33   | NS             | NS             | NS                   | 0,80             |
| Traseiro, %           | 51,42                | 53,62  | 54,08  | 54,80  | 50,81  | NS             | NS             | NS                   | 1,68             |
| Dianteiro, %          | 45,92                | 45,92  | 46,77  | 42,92  | 44,80  | NS             | NS             | NS                   | 2,73             |
| Ponta de Agulha, %    | 13,47                | 14,12  | 13,75  | 14,62  | 12,67  | NS             | NS             | NS                   | 0,76             |
| pH da carcaça         | 6,12                 | 6,03   | 6,06   | 6,03   | 6,19   | NS             | NS             | NS                   | 0,12             |
| Osso, %               | 20,11                | 19,30  | 18,72  | 19,06  | 19,73  | NS             | NS             | NS                   | 0,62             |
| Músculo, %            | 56,34                | 54,49  | 53,53  | 56,29  | 54,63  | NS             | NS             | NS                   | 1,54             |
| Gordura, %            | 22,79                | 25,79  | 27,37  | 24,32  | 25,05  | NS             | NS             | *                    | 1,05             |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle × tratamentos com glicerina. <sup>4</sup>Erro padrão da média. \* $P<0,05$ ; \*\* $P<0,01$ . NS=Não significativo. PCQ=Peso de carcaça quente. PCF=Peso de carcaça fria. RC=Rendimento de carcaça. AOL=Área de olho de lombo. GSUB=Gordura subcutânea.

PARSONS et al. (2009) alimentaram novilhas, mestiças de raças especializadas para corte, com até 16% de glicerina bruta e constataram efeito (quadrático,  $P<0,01$ ) no peso de carcaça quente, em que houve incremento de 8,1, 5,1 e 3,3 kg quando 2, 4 e 8% de glicerina foram adicionados, respectivamente. A área de olho de lombo e a gordura de cobertura decresceram linearmente ( $P<0,05$ ) quando se aumentou as doses

de glicerina. Esses autores esperavam maior deposição de gordura e, conseqüentemente, melhor marmoreio da carne desses animais devido à pressuposição de que a glicerina é rapidamente convertida a propionato no fígado.

A adição de glicerina, nas diferentes concentrações, não afetou ( $P>0,05$ ) os valores de umidade e teores de proteína bruta, extrato etéreo (gordura) e matéria mineral do músculo *Longissimus* dos animais avaliados no presente estudo (Tabela 10).

Tabela 10. Composição centesimal da carne de bovinos alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta

| Item*           | Glicerina, (%) |       |       |       |       | Contraste      |                |                     | EPM <sup>4</sup> |
|-----------------|----------------|-------|-------|-------|-------|----------------|----------------|---------------------|------------------|
|                 | G0             | G7,5  | G15   | G22,5 | G30   | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0 × GI <sup>3</sup> |                  |
| Umidade         | 76,33          | 75,13 | 76,00 | 75,16 | 75,78 | NS             | NS             | NS                  | 1,06             |
| Proteína        | 21,76          | 22,05 | 21,22 | 22,36 | 21,84 | NS             | NS             | NS                  | 0,72             |
| Gordura         | 2,08           | 2,51  | 2,32  | 2,31  | 1,92  | NS             | NS             | NS                  | 0,62             |
| Matéria mineral | 0,91           | 0,99  | 0,91  | 1,02  | 0,96  | NS             | NS             | NS                  | 0,06             |

\*Valores expressos em g/100g. <sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle × tratamentos com glicerina.

<sup>4</sup>Erro padrão da média. \* $P<0,05$ ; \*\* $P<0,01$ . NS=Não significativo.

LAGE et al. (2009) trabalharam com cordeiros confinados recebendo até 12% de glicerina bruta na dieta e observaram comportamento semelhante para os parâmetros: umidade, extrato etéreo e matéria mineral, os quais não apresentaram diferenças, porém o teor de proteína bruta da carne apresentou diminuição linear ( $P<0,05$ ) conforme foram adicionando a glicerina bruta. Esses autores atribuíram essa diminuição às modificações na composição corporal dos animais devido à maturidade.

A composição química observada está de acordo com os valores apresentados em outros experimentos conduzidos com bovinos da raça Nelore (FERNANDES et al., 2009), evidenciando que a glicerina bruta pode ser utilizada para substituição de ingredientes energéticos sem que haja prejuízos ao valor nutricional da carne, evidenciando que esta foi produzida com boa qualidade.

Não houve efeito ( $P>0,05$ ) da adição de glicerina sobre a cor da carne, capacidade de retenção de água, força de cisalhamento e colesterol da gordura (Tabela 11).

Foi observado efeito quadrático ( $P<0,05$ ) da adição de glicerina às dietas sobre a luminosidade da gordura (58,6), em que o menor valor foi observado no tratamento contendo 15% de glicerina bruta. Apesar disso, todos os valores observados no presente experimento estão abaixo dos observados em outros experimentos em que foram confinados bovinos da raça Nelore, como no de OLIVEIRA (2008), cujo valor foi de 72,5 para esse parâmetro. Em outro trabalho, RODRIGUES et al. (2004) relataram valor de 72,8 para luminosidade da carne de bovinos da raça Nelore.

Tabela 11. Características qualitativas da carne e da gordura de bovinos alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta

| Item                             | Glicerina, (%) |        |        |        |       | Contrastes     |                |                      | EPM <sup>4</sup> |
|----------------------------------|----------------|--------|--------|--------|-------|----------------|----------------|----------------------|------------------|
|                                  | G0             | G7,5   | G15    | G22,5  | G30   | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0 × GLI <sup>3</sup> |                  |
| L <sub>carne</sub> <sup>5</sup>  | 33,77          | 32,57  | 31,38  | 31,82  | 33,37 | NS             | NS             | NS                   | 5,34             |
| a <sub>carne</sub> <sup>6</sup>  | 13,21          | 12,49  | 10,89  | 12,00  | 12,95 | NS             | NS             | NS                   | 2,14             |
| b <sub>carne</sub> <sup>7</sup>  | 2,05           | 3,05   | 3,55   | 3,68   | 3,67  | NS             | NS             | NS                   | 1,42             |
| L <sub>gordura</sub>             | 64,46          | 61,61  | 58,63  | 60,55  | 63,40 | NS             | *              | NS                   | 4,82             |
| a <sub>gordura</sub>             | 10,55          | 9,18   | 9,70   | 8,81   | 9,50  | NS             | NS             | NS                   | 2,15             |
| b <sub>gordura</sub>             | 9,31           | 8,87   | 10,56  | 8,90   | 10,52 | NS             | NS             | NS                   | 1,67             |
| CRA <sup>8</sup>                 | 74,12          | 75,53  | 73,76  | 75,06  | 73,75 | NS             | NS             | NS                   | 5,02             |
| FC <sup>9</sup>                  | 4,77           | 4,73   | 3,82   | 4,45   | 4,07  | NS             | NS             | NS                   | 1,33             |
| PC <sup>10</sup>                 | 34,85          | 32,90  | 31,60  | 32,00  | 30,54 | NS             | NS             | NS                   | 5,35             |
| Colesterol carne <sup>11</sup>   | 36,81          | 30,62  | 39,87  | 34,40  | 26,97 | **             | *              | *                    | 1,69             |
| Colesterol gordura <sup>12</sup> | 105,58         | 102,63 | 102,66 | 108,38 | 98,66 | NS             | NS             | NS                   | 6,16             |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle × tratamentos com glicerina. <sup>4</sup>Erro padrão da média. <sup>5</sup>Luminosidade. <sup>6</sup>Intensidade da cor vermelha. <sup>7</sup>Intensidade da cor amarela. <sup>8</sup>Capacidade de retenção de água (%). <sup>9</sup>Força de cisalhamento (kgf/cm<sup>2</sup>). <sup>10</sup>Perda por cozimento (%). <sup>11</sup>mg de colesterol/ g de amostra. \* $P<0,05$ ; \*\* $P<0,01$ . NS = Não significativo.

Foi observado efeito da adição de glicerina bruta sobre o teor de colesterol da carne (L,  $P<0,01$ , Q,  $P<0,05$ , e 0 × GLI,  $P<0,05$ ), e a adição desse coproduto proporcionou diminuição significativa no teor de colesterol médio da carne dos animais que receberam a glicerina, quando comparado ao tratamento controle. Esse resultado tem grande importância, uma vez que atualmente há uma crescente preocupação com

a saúde humana aliada a correlação existente entre o teor de sérico de colesterol com a ocorrência de doenças cardiovasculares.

Houve efeito quadrático ( $P < 0,05$ ) da adição de glicerina sobre as concentrações de ácido pentadecanoico, palmitoleico e eicosanoico na carne (Tabela 12).

O ácido palmitoleico, apesar de ser encontrado em concentrações relativamente baixas (cerca de 3,5%), é um monoinsaturado que pode ser decomposto em aldeídos insaturados os quais podem ser a causa de um fenômeno conhecido como a “síndrome do odor de pessoa velha”, além de estar relacionado com aumentos nas concentrações de LDL em humanos (NESTEL et al., 1994), portanto, quanto menor a quantidade desse ácido graxo, melhor a carne para consumo humano.

Foi observado efeito quadrático ( $P < 0,05$ ) da inclusão de glicerina bruta às dietas sobre o ácido esteárico da carne dos animais, apesar disso, os valores são próximos aos encontrados por MENEZES et al. (2006), os quais obtiveram o valor de 19,2%. O ácido esteárico, apesar de ser saturado, apresenta efeito hipercolesterolêmico nulo, pois é transformado em ácido oleico no organismo humano (SINCLAIR, 1993).

Também foi observado efeito quadrático ( $P < 0,01$ ) da adição de glicerina sobre as concentrações de ácido  $\gamma$ -linolênico da carne, e a glicerina proporcionou maiores valores para esse ácido graxo independente da concentração utilizada ( $P < 0,01$ ). Apesar da concentração de ácido  $\gamma$ -linolênico ser baixa na carne de bovinos (menos de 0,2% do total de ácido graxos), ele é um ácido graxo essencial possuindo funções importantes, dentre elas, a formação de prostaglandina E1 (SHAW, 1965).

D'AUREA (2010), alimentando novilhas da raça Nelore com concentrações crescentes de glicerina bruta (0, 10 ou 20) observou incremento nas concentrações de ácido linoleico conjugado (CLA), obtendo valor médio de 0,5% quando forneceu 10% de glicerina, valor superior ao obtido neste estudo (0,3%), no qual a glicerina não promoveu alteração significativa para esse ácido graxo.

Tabela 12. Quantificação de ácidos graxos da carne de bovinos alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina

| Ácido graxo      | Fórmula     | Glicerina (%) |       |       |       |       | Contraste      |                |                      | EPM <sup>4</sup> |
|------------------|-------------|---------------|-------|-------|-------|-------|----------------|----------------|----------------------|------------------|
|                  |             | G0            | G7,5  | G15   | G22,5 | G30   | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0 × GLI <sup>3</sup> |                  |
| Cáprico          | C10:0       | 0,04          | 0,06  | 0,05  | 0,05  | 0,04  | NS             | NS             | NS                   | 0,01             |
| Láurico          | C12:0       | 0,08          | 0,10  | 0,06  | 0,08  | 0,07  | NS             | NS             | NS                   | 0,02             |
| Mirístico        | C14:0       | 3,73          | 4,19  | 3,93  | 3,80  | 3,13  | NS             | NS             | NS                   | 0,96             |
| Miristoleico     | C14:1       | 1,04          | 0,90  | 0,96  | 0,60  | 1,12  | NS             | NS             | NS                   | 0,21             |
| Pentadecanoico   | C15:0       | 0,39          | 0,55  | 0,71  | 0,46  | 0,35  | NS             | *              | NS                   | 0,09             |
| Palmítico        | C16:0       | 28,34         | 27,46 | 28,22 | 29,48 | 26,09 | NS             | NS             | NS                   | 3,12             |
| Palmitoleico     | C16:1       | 3,82          | 3,28  | 3,47  | 2,80  | 4,09  | NS             | *              | NS                   | 0,24             |
| Heptadecanoico   | C17:0       | 1,11          | 1,52  | 1,79  | 1,23  | 0,98  | NS             | NS             | NS                   | 0,39             |
| Heptadecanoico   | C17:1       | 1,09          | 1,37  | 1,56  | 0,74  | 1,23  | NS             | Ns             | NS                   | 0,62             |
| Esteárico        | C18:0       | 13,97         | 16,00 | 15,66 | 20,34 | 12,25 | NS             | *              | NS                   | 1,62             |
| Oleico           | C18:1n9c    | 42,95         | 38,55 | 39,25 | 35,62 | 44,66 | NS             | NS             | NS                   | 3,03             |
| Cis-vacênico     | C18:1n7     | 2,23          | 1,93  | 1,61  | 2,26  | 1,90  | NS             | NS             | NS                   | 0,22             |
| Linoleico        | C18:2n6c    | 2,00          | 2,61  | 1,26  | 2,01  | 2,42  | NS             | NS             | NS                   | 1,13             |
| γ Linolênico     | C18:3n6     | 0,04          | 0,08  | 0,10  | 0,12  | 0,04  | NS             | **             | **                   | 0,01             |
| α Linolênico     | C18:3n3     | 0,11          | 0,16  | 0,16  | 0,10  | 0,12  | NS             | NS             | NS                   | 0,45             |
| CLA              | C18:2c9,t11 | 0,25          | 0,30  | 0,33  | 0,27  | 0,28  | NS             | NS             | NS                   | 0,11             |
| Araquídico       | C20:0       | 0,13          | 0,15  | 0,09  | 0,17  | 0,17  | NS             | NS             | NS                   | 0,04             |
| Eicosenoico      | C20:1n9     | 0,20          | 0,17  | 0,12  | 0,10  | 0,34  | NS             | *              | NS                   | 0,07             |
| Eicosadienoico   | C:20        | 0,03          | 0,04  | 0,02  | 0,03  | 0,03  | NS             | NS             | NS                   | 0,01             |
| Eicosatrienoico  | C20:3n6     | 0,01          | 0,11  | 0,09  | 0,07  | 0,07  | NS             | NS             | NS                   | 0,07             |
| Araquidônico     | C20:4n6     | 0,05          | 0,33  | 0,29  | 0,04  | 0,25  | NS             | NS             | NS                   | 0,27             |
| Eicosapentanoico | C20:5n3     | 0,03          | 0,07  | 0,04  | 0,09  | 0,03  | NS             | NS             | NS                   | 0,03             |
| Docosatrienoico  | C22:4n6     | 0,004         | 0,04  | 0,02  | 0,004 | 0,02  | NS             | NS             | NS                   | 0,02             |
| Nervônico        | C24:1n9     | 0,04          | 0,11  | 0,14  | 0,04  | 0,09  | NS             | NS             | NS                   | 0,09             |

<sup>1</sup>Erro padrão da média. <sup>2</sup>Linear. <sup>3</sup>Quadrático. <sup>4</sup>Tratamento controle × tratamentos com glicerina. \*P<0,05; \*\*P<0,01. NS=Não significativo.

Apesar de pequenos efeitos proporcionados pela glicerina, não foi observado efeito na concentração total de ácidos graxos saturados, insaturados, poliinsaturados e relação insaturados:saturados (Tabela 13).

Os valores encontrados neste estudo estão de acordo com MENEZES et al. (2009) os quais, trabalhando com bovinos da raça Nelore, observaram valores de 50,1% para ácidos graxos insaturados e 2,7% para os poliinsaturados, sendo esses valores considerados normais para bovinos terminados em sistema de confinamento.

Tabela 13. Quantidades totais de ácido graxos saturados (AGS), insaturados (AGI), poliinsaturados (AGPI) e relação entre insaturados e saturados (AGI:AGS) da carne de bovinos alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta

| Item    | Glicerina Bruta, (%) |       |       |       |       | Contraste      |                |                     | EPM <sup>4</sup> |
|---------|----------------------|-------|-------|-------|-------|----------------|----------------|---------------------|------------------|
|         | G0                   | G7,5  | G15   | G22,5 | G30   | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0x GLI <sup>3</sup> |                  |
| AGS     | 47,81                | 50,04 | 50,49 | 55,62 | 43,07 | NS             | NS             | NS                  | 4,90             |
| AGI     | 52,19                | 49,97 | 49,51 | 44,38 | 56,93 | NS             | NS             | NS                  | 4,90             |
| AGPI    | 2,46                 | 3,75  | 2,29  | 2,73  | 3,29  | NS             | NS             | NS                  | 1,47             |
| AGI:AGS | 1,13                 | 1,01  | 0,93  | 0,78  | 1,32  | NS             | NS             | NS                  | 0,23             |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle x tratamentos com glicerina. <sup>4</sup>Erro padrão da média. \*<0,05; \*\*<0,01, NS=Não significativo.

Com relação à quantificação de ácidos graxos da gordura, o único efeito observado foi o quadrático ( $P < 0,05$ ) sobre as concentrações do ácido heptadecanoico (Tabela 14), em que as menores concentrações foram observadas nas doses intermediárias de inclusão de glicerina. Esse ácido graxo representa cerca de 1% do total de ácidos graxos contidos na gordura e aparentemente não apresenta função determinante para a saúde humana. Apesar disso, era esperado aumento na concentração de ácidos graxos de cadeia ímpar, como C17:0, uma vez que esse tipo de ácido graxo é sintetizado pelas bactérias ruminais com a utilização principalmente de propionato e valerato e estão presentes nos lipídios microbianos (MANSBRIDGE & BLAKE, 1997). Porém, o aumento de ácido propiônico causado pela adição de glicerina não proporcionou tal efeito no presente estudo.

Tabela 14. Quantificação de graxos da gordura de bovinos alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta

| Ácido graxo      | Fórmula     | Glicerina (%) |       |       |       |       | Contraste      |                |                      | EPM <sup>4</sup> |
|------------------|-------------|---------------|-------|-------|-------|-------|----------------|----------------|----------------------|------------------|
|                  |             | G0            | G7,5  | G15   | G22,5 | G30   | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0 × GLI <sup>3</sup> |                  |
| Cáprico          | C10:0       | 0,07          | 0,06  | 0,08  | 0,06  | 0,07  | 0,71           | NS             | NS                   | 0,02             |
| Láurico          | C12:0       | 0,10          | 0,09  | 0,09  | 0,05  | 0,10  | 0,44           | NS             | NS                   | 0,01             |
| Mirístico        | C14:0       | 4,58          | 4,40  | 6,06  | 4,48  | 4,37  | 0,84           | NS             | NS                   | 0,75             |
| Miristoleico     | C14:1       | 1,29          | 1,31  | 2,22  | 1,16  | 1,35  | 0,99           | NS             | NS                   | 0,42             |
| Pentadecanoico   | C15:0       | 0,58          | 0,55  | 0,52  | 0,43  | 0,53  | 0,67           | NS             | NS                   | 0,20             |
| Palmítico        | C16:0       | 25,38         | 26,53 | 33,11 | 28,80 | 24,77 | 0,82           | NS             | NS                   | 2,13             |
| Palmitoleico     | C16:1       | 3,30          | 3,32  | 5,29  | 3,06  | 3,60  | 0,81           | NS             | NS                   | 0,64             |
| Heptadecanoico   | C17:0       | 1,51          | 1,36  | 0,71  | 0,87  | 1,41  | 0,42           | NS             | NS                   | 0,38             |
| Heptadecanoico   | C17:1       | 1,05          | 1,02  | 0,60  | 0,47  | 1,02  | 0,05           | *              | NS                   | 0,12             |
| Esteárico        | C18:0       | 14,41         | 14,32 | 12,00 | 16,86 | 14,51 | 0,58           | NS             | NS                   | 2,26             |
| Oleico           | C18:1n9c    | 42,95         | 42,50 | 34,13 | 38,63 | 43,62 | 0,73           | NS             | NS                   | 3,37             |
| Cis-vacênico     | C18:1n7     | 2,14          | 2,03  | 2,48  | 2,41  | 1,99  | 0,92           | NS             | NS                   | 0,36             |
| Linoleico        | C18:2n6c    | 1,34          | 1,37  | 1,59  | 1,51  | 1,53  | 0,55           | NS             | NS                   | 0,39             |
| γ Linolênico     | C18:3n6     | 0,07          | 0,08  | 0,06  | 0,08  | 0,07  | 1,00           | NS             | NS                   | 0,02             |
| α Linolênico     | C18:3n3     | 0,10          | 0,11  | 0,14  | 0,12  | 0,10  | 0,93           | NS             | NS                   | 0,04             |
| CLA              | C18:2c9,t11 | 0,59          | 0,52  | 0,66  | 0,62  | 0,42  | 0,36           | NS             | NS                   | 0,12             |
| Araquídico       | C20:0       | 0,14          | 0,12  | 0,06  | 0,16  | 0,14  | 0,18           | NS             | NS                   | 0,01             |
| Eicosenoico      | C20:1n9     | 0,25          | 0,29  | 0,16  | 0,18  | 0,22  | 0,54           | NS             | NS                   | 0,11             |
| Eicosadienoico   | C:20        | 0,03          | 0,03  | 0,03  | 0,03  | 0,03  | 0,15           | NS             | NS                   | 0,003            |
| Eicosatrienoico  | C20:3n6     | -             | -     | -     | -     | -     | -              | -              | -                    | -                |
| Araquidônico     | C20:4n6     | -             | -     | -     | -     | -     | -              | -              | -                    | -                |
| Eicosapentanoico | C20:5n3     | -             | -     | -     | -     | -     | -              | -              | -                    | -                |
| Docosatrienoico  | C22:4n6     | -             | -     | -     | -     | -     | -              | -              | -                    | -                |
| Nervônico        | C24:1n9     | -             | -     | -     | -     | -     | -              | -              | -                    | -                |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle × tratamentos com glicerina. <sup>4</sup>Erro padrão da média. \*P<0,05; \*\*P<0,01. NS=Não significativo.

As maiores concentrações foram observadas para os ácidos graxos mirístico (4,5%) palmítico (27%), esteárico (14,5%) e oleico (40%).

Na gordura de cobertura também não houve efeito ( $P>0,05$ ) da inclusão de glicerina sobre as concentrações totais de ácidos graxos saturados, insaturados, poliinsaturados e relação insaturados:saturados (Tabela 15), indicando que, apesar da glicerina promover modificação no aporte de energia aos animais, isso não foi capaz de promover alterações significativas na qualidade dos ácidos graxos.

Tabela 15. Quantidades totais de ácido graxos saturados (AGS), insaturados (AGI), poliinsaturados (AGPI) e relação entre insaturados e saturados (AGI:AGS) da gordura de cobertura de bovinos alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta

| Item    | Glicerina Bruta, (%) |       |       |       |       | Contraste      |                |                     | EPM <sup>4</sup> |
|---------|----------------------|-------|-------|-------|-------|----------------|----------------|---------------------|------------------|
|         | G0                   | G7,5  | G15   | G22,5 | G30   | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0× GLI <sup>3</sup> |                  |
| AGS     | 48,44                | 45,06 | 47,70 | 46,92 | 49,19 | NS             | NS             | NS                  | 3,19             |
| AGI     | 51,56                | 54,94 | 52,08 | 53,08 | 50,80 | NS             | NS             | NS                  | 3,19             |
| AGPI    | 2,26                 | 2,26  | 1,77  | 2,20  | 2,09  | NS             | NS             | NS                  | 0,40             |
| AGI:AGS | 1,06                 | 1,23  | 1,10  | 1,13  | 1,04  | NS             | NS             | NS                  | 0,13             |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>4</sup>Tratamento controle × tratamentos com glicerina. <sup>5</sup>Erro padrão da média. \* $<0,05$ ; \*\* $<0,01$ , NS=Não significativo.

Foi observado efeito linear crescente ( $P<0,01$ ) da inclusão de glicerina sobre o sabor e o teor de gordura, percebidos pelos degustadores treinados (Tabela 16). Também foi observado efeito quadrático sobre a característica maciez, em que a carne com a maior nota foi atribuída às amostras do tratamento com inclusão de 15% de glicerina bruta (4,58). Além disso, a adição de glicerina promoveu melhoria ( $P<0,05$ ) na suculência da carne, e as maiores notas foram dadas para amostras dos tratamentos com 15, 22,5 e 30% de glicerina.

Os resultados obtidos neste estudo indicam que a inclusão de glicerina bruta na dieta dos animais promoveu melhoria nas características sensoriais da carne quando incluída até 30%.

Não há estudos, até o momento, que descrevam resultados de análise sensorial de produtos de ruminantes alimentados com glicerina bruta, no entanto LAMMERS et al. (2008), fornecendo até 10% de glicerina para suínos não observou efeito ( $P>0,05$ )

sobre as características maciez, sabor e suculência. Em outro estudo com suínos, DUTTLINGER et al. (2009) forneceram 5% de glicerina aos animais e não observaram efeito ( $P>0,05$ ) da inclusão da glicerina sobre a suculência, sabor e maciez da carne.

Tabela 16. Análise sensorial da carne de bovinos alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta

| Item                         | Glicerina bruta, (%) |      |      |       |      | Contrastes     |                |                      | EPM <sup>4</sup> |
|------------------------------|----------------------|------|------|-------|------|----------------|----------------|----------------------|------------------|
|                              | G0                   | G7,5 | G15  | G22,5 | G30  | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0 × GLI <sup>3</sup> |                  |
| Aparência                    | 4,38                 | 5,18 | 4,51 | 4,53  | 4,44 | NS             | NS             | NS                   | 1,61             |
| Odor                         | 4,07                 | 5,26 | 3,23 | 5,37  | 3,51 | NS             | NS             | NS                   | 1,62             |
| Sabor                        | 4,82                 | 4,88 | 5,57 | 5,63  | 6,40 | **             | NS             | NS                   | 1,94             |
| Maciez                       | 3,10                 | 3,57 | 4,58 | 2,69  | 3,33 | NS             | *              | NS                   | 1,48             |
| Suculência                   | 5,11                 | 4,34 | 6,56 | 6,94  | 6,82 | **             | NS             | *                    | 2,02             |
| Teor de gordura <sup>5</sup> | 5,05                 | 4,66 | 6,28 | 6,22  | 7,00 | **             | NS             | NS                   | 1,94             |
| Aceitação global             | 4,55                 | 5,92 | 3,56 | 6,38  | 4,23 | NS             | NS             | NS                   | 1,71             |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle × tratamentos com glicerina. <sup>4</sup>Erro padrão da média.

<sup>5</sup>Percepção. \* $P<0,05$ ; \*\* $P<0,01$ . NS=Não significativo.

## Conclusão

A inclusão de até 30% de glicerina bruta em dietas de bovinos da raça Nelore confinados provoca mudanças no quadro enzimático, leucocitário e hematológico dos animais, porém não o suficiente para causar prejuízos à saúde, não apresentando influência sobre as características da carcaça, porém algumas variáveis qualitativas da carne são melhoradas quando a glicerina bruta é introduzida, como diminuição no teor de colesterol e melhoria no sabor da carne.

## Referências

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.

AMETAJ, B.N. A new understanding of the causes of fatty liver in dairy cows. **Advances in Dairy Technology**, v.17, p.97-112, 2005.

AMETAJ, B.N. et al. Strong relationships between mediators of the acute phase response and fatty liver in dairy cows. **Canadian Journal of Animal Science**, v.85, n.2, p.65-175, 2005.

ANDERSEN, P.H. Bovine endotoxemia: some aspects of relevance to production diseases. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.98, p.141-155, 2003.

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.

COSTA, E.C. et al. Composição física da carcaça, qualidade da carne e conteúdo de colesterol no músculo Longissimus dorsi de bovinos Red Angus superprecoces, terminados em confinamento e abatidos com diferentes pesos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.1, p.417-428, 2002.

CHUNG, Y. H. et al. Effects of feeding dry glycerin to early postpartum Holstein dairy cows on lactational performance and metabolic profiles. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.12, p.5682-5691, 2007.

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.

DUFFIELD, T. F. & LEBLANC, S. J. **Interpretation of serum metabolic parameters around the transition period**. Southwest Nutrition and Management Conference, p.106-114, 2009.

DUTTLINGER, A.W. et al. Effects of crude glycerol and ractopamine HCl on growth and performance, carcass characteristics, and loin quality of finishing pigs. In: 42th ADSA Midwest Meeting, 87, 2009, Des Moines. **Proceedings...** American Dairy Science Association, 2009.

FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 5<sup>a</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2000. 1174p.

FERNANDES, A.R.M. et al. Composição em ácidos graxos e qualidade da carne de tourinhos Nelore e Canchim alimentados com dietas à base de cana-de-açúcar e dois níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.2, p.328-337, 2009.

FREITAS, M.D. et al. Equilíbrio eletrolítico e ácido-base em bovinos. **Ciencia Rural**, v.40, n.12, p.2608-2615, 2010.

GONZÁLEZ, F.H.D. **Uso de perfil metabólico para determinar o status nutricional em gado de corte**. In: GONZÁLEZ, F.H.D. et al. (Eds). Perfil Metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.63-74, 2000.

GONZÁLEZ, F. H. D. & SCHEFFER, J. F. S. Perfil sangüíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: I Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil, 2003, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: UFRGS, p.73-87, 2003.

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

HANKINS, O.G. & HOWE, P.E. **Estimation of the composition of beef carcasses and cuts**. Washington: United States Department of Agriculture, 1946. p.1-19 (Technical Bulletin– USDA, 926).

HODGSON, D.R. **Moléstias do músculo**. In: SMITH, B.P. Tratado de medicina interna de grandes animais: moléstias de eqüinos, bovinos, avinos e caprinos. 1 ed, v.2. São Paulo: Manole, p.1325-1350, 1994.

IGARASI, M.S. et al. Características de carcaça e parâmetros de qualidade de carne de bovnios jovens alimentados com grão úmido de milho ou com grão úmido de sorgo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.3, p.520-528, 2008.

JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**, Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417p.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. C. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6 ed. San Diego: Academic Press, 2008, 904p.

KEER, G. M. **Exames laboratoriais em medicina veterinária: Bioquímica clínica e hematologia**. 2 ed. São Paulo: Roca, 2003. 436 p.

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

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

LEE, J. A.; ROUSSEL, J. D.; BEATTY, J. F. Effect of temperature season on bovine adrenal cortical function, blood cell profile, and milk production. **Journal of Dairy Science**, v.59, n.1, p.104-108, 1974.

LYON, C. E. ; LYON, B. G. ; DICKENS, J. A. Effects of carcass simulation, deboning time, and marination on color and texture of broiler breast meat. **Journal of Applied Poultry Research**, v.7, n.1, p.53-60, 1998.

MACH, N.; BACH, A.; DEVANT, M. Effects of crude glycerin supplementation on performance and meat quality of Holstein bulls fed high-concentrate diets. **Journal Animal Science**, v.87, n.2, p.632-638, 2009.

MADRUGA, M.S. et al. Características químicas e sensoriais de cortes comerciais de caprinos SRD e mestiços de Bôer. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.3, p.713-719, 2005.

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.

MARQUES, L.C. et al. Estudo clínico, cirúrgico e anatomopatológico de intussuscepção em quatro bovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, n.1, p.52-57, 2001.

MENEZES, L.F.G. et al. Perfil de ácidos graxos de cadeia longa e qualidade da carne de bovinos terminados em confinamento com diferentes níveis de monensina sódica na dieta. **Ciência Rural**, v.36, n.1, p.186-190, 2006.

MENEZES, L.F.G. et al. Perfil de ácidos graxos na carne de bovinos Charolês e Nelore puros e de gerações avançadas do cruzamento rotativo, terminados em confinamento. **Ciência Rural**, v.39, n.8, p.2478-2484, 2009.

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

NAGARAJA, T.G. & LECHTENBERG, K.F. Liver abscesses in feedlot cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.23, n.2, p.351-369, 2007.

NESTEL, P.; CLIFTON, P.; NOAKES, M. Effects of increasing dietary palmitoleic acid compared with palmitic and oleic acids on plasma lipids of hypercholesterolemic men. **Journal of Lipid Research**. v.35, p.656-662, 1994.

NOCEK, J.K. Bovine acidosis: implications for laminitis. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.5, p.1005-1028, 1997.

OLIVEIRA, E.A. Desempenho, composição física das carcaças e qualidade da carne de tourinhos nelore e canchim terminados em confinamento. 2008. 64f. **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, 2008.

OLIVEIRA, N.J.F. et al. Hemograma, bioquímica sérica e histologia da biópsia hepática de bovinos após administração de polpa cítrica. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.3, p.418-422, 2005.

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, n.2, p.653-657, 2009.

POGLIANI, F. C. & BIRGEL JUNIOR, E. Valores de referência do lipidograma de bovinos da raça holandesa, criados no Estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.44, n.5, p.373-383, 2007.

RODRIGUES, V.C. & ANDRADE, I.F. Características físico-químicas da carne de bubalinos e de bovinos castrados e inteiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p.1839-1849, 2004.

SAS. **SAS/STAT User's Guide**. Versão 9.1, Edição SAS Institute, Inc., Cary, NC, EUA. 2004.

SCOLLAN, N.D. et al. Manipulating the fatty acid composition of muscle and adipose tissue in beef cattle. **British Journal of Nutrition**, v.85, p.115-124, 2001.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos** (métodos químicos e biológicos). 3 ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 235p.

SILVA, L.F. et al. Crescimento de regiões da carcaça de cordeiros abatidos com diferentes peso. **Ciência Rural**, v.30, p.481-484, 2000.

SINCLAIR, A.J. Dietary fat and cardiovascular disease: the significance of recent developments for the food industry. **Food Australia**, v.45, p.226, 1993.

SHAW, R. The occurrence of  $\gamma$ -linolenic acid in fungi. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.98, p.230-37, 1965.

SMITH, S.B. & GROUSE, J.D. Relative contributions of acetate, lactate and glucose to lipogenesis in bovine intramuscular and subcutaneous adipose tissue. **Journal of Nutrition**, n.114, n.4, p.792, 1984.

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

WITTWER. F. **Diagnósticos dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos**. In: GONZÁLEZ, F.H.D. et al. (Eds). Perfil Metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre, Brasil, Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.9-22, 2000.

## **CAPÍTULO 4 – GLICERINA BRUTA EM DIETAS DE BOVINOS DA RAÇA NELORE CONFINADOS: DIGESTIBILIDADE APARENTE E DEGRADABILIDADE RUMINAL**

**RESUMO** – Objetivou-se neste estudo avaliar a inclusão de até 30% de glicerina bruta em dietas para bovinos da raça Nelore e seus efeitos sobre digestibilidade aparente e degradabilidade ruminal da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido dos ingredientes milho, farelo de girassol, casca de soja e silagem de milho. Utilizou-se 30 bovinos da raça Nelore (277,7 kg PC e 18 meses de idade), os quais foram mantidos em confinamento por 103 dias. Os animais foram divididos em blocos e submetidos a um dos cinco tratamentos: G0 - controle sem adição de glicerina, G7,5 - 7,5% de glicerina na matéria seca da dieta, G15 - 15% de glicerina na matéria seca da dieta, G22,5 - 22,5% de glicerina na matéria seca da dieta e G30 - 30% de glicerina na matéria seca da dieta. Para as inclubações ruminais foram utilizados cinco bovinos canulados permanentemente no rúmen, com as mesmas características dos animais do ensaio de desempenho (doadores de amostras para avaliação da digestibilidade). Foram analisados os coeficientes de digestibilidade aparente e degradabilidade da MS, MO, PB, FDN e FDA dos ingredientes: casca de soja, milho, farelo de girassol e silagem de milho. Os dados de digestibilidade foram analisados em blocos casualizados e para análise dos dados de degradabilidade utilizou-se do delineamento em quadrado latino 5 × 5. Foram feitas análises de contrastes observando a significância dos modelos linear, quadrático e do tratamento controle × tratamentos com glicerina. A inclusão de até 30% de glicerina bruta em dietas de bovinos da raça Nelore confinados promove efeito negativo na digestibilidade e nos parâmetros de degradação da fração fibrosa, principalmente da FDN.

**Palavras-chave:** biodiesel, coproduto, degradação ruminal, digestão

## Introdução

A investigação da qualidade dos alimentos fornecidos aos animais de produção tem evoluído consideravelmente nos últimos anos, uma vez que disso depende a produtividade e lucratividade do negócio.

A introdução de novos alimentos, como os subprodutos da agroindústria do biodiesel, por exemplo, trouxe à tona métodos de avaliação de alimentos clássicos, como os ensaios de degradabilidade ruminal.

Em virtude da variação na composição química e à diversificação de métodos de análises das frações dos alimentos para a determinação de alguns parâmetros ruminais, torna-se necessária uma avaliação mais precisa do valor nutritivo dos alimentos volumosos e concentrados. O conhecimento das taxas de degradação e passagem desses alimentos poderá fornecer dados para melhorar o balanceamento de rações (CARVALHO et al., 2006).

A técnica da degradabilidade “in situ”, apesar de sofrer várias críticas, como a utilização de animais canulados, contaminação microbiana dos sacos de náilon (NOCEK & GRANT, 1987), ainda é considerada a melhor e a mais amplamente utilizada para a identificação das degradabilidades (BRODERICK, 1995).

A degradabilidade efetiva e a taxa de degradação permitem o cálculo de uma dieta mais adequada, no sentido de proporcionar uma produção mais eficiente, inferindo-se que a taxa de degradação é um instrumento de expressiva importância na estimativa da ingestão voluntária de alimentos (EVANGELISTA et al., 2002).

Estudos preliminares indicam que a inclusão de glicerina bruta em dietas de ruminantes causa prejuízos no aproveitamento da fração fibrosa pelos animais, sendo esse mecanismo ainda desconhecido (DONKIN, 2008, PARSONS et al., 2009, PARSONS & DROUILLARD, 2010).

Em contrapartida, há trabalhos demonstrando que se pode incluir até 20% em dietas para ruminantes, sem que haja prejuízos significativos no aproveitamento da fibra da dieta. HAMPY (2007) forneceu 0, 5, 10, e 20% de glicerina bruta para caprinos de corte e não verificaram queda na digestibilidade da fração fibrosa.

Nesse sentido o objetivo nesse estudo foi avaliar a inclusão de glicerina bruta em dietas para bovinos da raça Nelore em terminação e seu efeito sobre a digestibilidade aparente e degradabilidade ruminal da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido dos ingredientes milho, farelo de girassol, casca de soja e silagem de milho.

## **Material e métodos**

O experimento de digestibilidade foi conduzido no confinamento experimental pertencente ao Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/ Unesp, Câmpus de Jaboticabal, o qual possui 30 baias individuais semicobertas, com piso concretado e com cochos individuais e bebedouros a cada duas baias, e nas dependências da Unidade Animal de Estudos Digestivos e Metabólicos, pertencente ao mesmo departamento e instituição.

Foram utilizados 30 bovinos da raça Nelore, não castrados, com peso corporal de 277,27 kg e aproximadamente 18 meses de idade, distribuídos em delineamento de blocos casualizados com 5 tratamentos e 6 repetições.

As cinco dietas experimentais isoproteicas (12,2% PB/MS) e isoenergéticas (2,5 Mcal de EM/kg MS) foram formuladas de acordo com o NRC (1996) e fornecidas na relação volumoso:concentrado 30:70 e denominadas de: Tratamento GLI 0 - controle sem adição de glicerina, Tratamento GLI 7,5 - 7,5% de glicerina na matéria seca da dieta, Tratamento GLI 15 - 15% de glicerina na matéria seca da dieta, Tratamento GLI 22,5 - 22,5% de glicerina na matéria seca da dieta e Tratamento GLI 30 - 30% de glicerina na matéria seca da dieta.

A glicerina utilizada possuía 86% de glicerol, 95% de matéria seca, cerca de 6% de sais e menos de 0,01% de metanol. O volumoso foi a silagem de milho e o concentrado composto por milho em grão, casca de soja, farelo de girassol. O sal mineral foi fornecido à vontade nos cochos.

Na Tabela 1 está demonstrada a composição químico-bromatológica dos ingredientes utilizados na formulação das dietas e na Tabela 2 estão as porcentagens dos ingredientes e a estimativa da composição dos tratamentos.

Tabela 1. Matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e energia metabolizável (EM) dos alimentos utilizados na formulação das dietas experimentais

| Ingredientes           | MS*    | PB*   | EE*  | FDN*  | FDA*  | EM <sup>1</sup> |
|------------------------|--------|-------|------|-------|-------|-----------------|
|                        | (%)    | % MS  |      |       |       | Mcal/kg MS      |
| Silagem de milho       | 30,92  | 7,26  | 3,16 | 55,41 | 30,63 | 2,21            |
| Milho                  | 87,94  | 9,11  | 4,07 | 13,98 | 4,08  | 3,10            |
| Farelo de girassol     | 91,10  | 31,50 | 1,50 | 42,36 | 34,90 | 2,17            |
| Glicerina <sup>2</sup> | 80,00  | 0,00  | 0,50 | 0,00  | 0,00  | 3,00            |
| Casca de soja          | 89,80  | 11,65 | 1,60 | 68,40 | 50,52 | 2,42            |
| Sal comum              | 100,00 | 0,00  | 0,00 | 0,00  | 0,00  | 0,00            |
| Calcário calcítico     | 100,00 | 0,00  | 0,00 | 0,00  | 0,00  | 0,00            |
| Fosfato bicálcico      | 100,00 | 0,00  | 0,00 | 0,00  | 0,00  | 0,00            |

\*Análises realizadas no Laboratório de Ingredientes e Gases Poluentes da Unidade Animal de Estudos Digestivos e Metabólicos da FCAV/Unesp. <sup>1</sup>Valores tabelados. <sup>2</sup>Valor estimado.

O período total de confinamento foi de 103 dias, sendo os primeiros 21 dias destinados à adaptação dos animais ao manejo, às instalações e à dieta e 82 dias de período experimental propriamente dito.

A alimentação foi ofertada duas vezes ao dia, as 8 e 18h. O concentrado e o volumoso foram pesados separadamente e misturados à glicerina no momento do fornecimento, em cada uma das refeições diárias. Antes da refeição da manhã eram pesadas e colhidas cerca de 10% das sobras de cada animal com a finalidade de ajustar a oferta de alimentos.

Os alimentos fornecidos, sobras e fezes dos animais foram incubadas em cinco bovinos da raça Nelore, canulados permanentemente no rúmen e com as mesmas características dos animais do ensaio de desempenho, sendo que cada animal foi adaptado a uma das cinco dietas experimentais.

Tabela 2. Porcentagem dos ingredientes e estimativa da composição bromatológica dos tratamentos experimentais (% MS)

| Ingredientes       | Tratamentos                |                   |                  |                    |                  |
|--------------------|----------------------------|-------------------|------------------|--------------------|------------------|
|                    | G0 <sup>1</sup>            | G7,5 <sup>2</sup> | G15 <sup>3</sup> | G22,5 <sup>4</sup> | G30 <sup>5</sup> |
| Silagem de milho   | 30,00                      | 30,00             | 30,00            | 30,00              | 30,00            |
| Milho              | 35,00                      | 25,50             | 18,00            | 12,50              | 5,00             |
| Casca de soja      | 19,20                      | 18,05             | 14,55            | 8,90               | 5,45             |
| Farelo de girasol  | 14,60                      | 17,8              | 21,30            | 24,90              | 28,4             |
| Glicerina          | 0,00                       | 7,50              | 15,00            | 22,50              | 30,00            |
| Sal comum          | 0,50                       | 0,50              | 0,50             | 0,50               | 0,50             |
| Calcário calcítico | 0,70                       | 0,65              | 0,55             | 0,70               | 0,65             |
| Fosfato bicálcico  | 0,00                       | 0,10              | 0,10             | 0,00               | 0,00             |
| <b>Total</b>       | 100,00                     | 100,00            | 100,00           | 100,00             | 100,00           |
| <b>Nutrientes</b>  | <b>Composição estimada</b> |                   |                  |                    |                  |
| PB (% MS)          | 12,20                      | 12,21             | 12,22            | 12,20              | 12,21            |
| EM (Mcal/kg MS)    | 2,53                       | 2,52              | 2,52             | 2,53               | 2,52             |
| EE (%)             | 2,90                       | 2,58              | 2,31             | 2,09               | 1,81             |
| FDN (%)            | 40,83                      | 40,07             | 38,11            | 35,01              | 33,08            |
| FDA (%)            | 25,41                      | 25,56             | 24,71            | 22,89              | 22,06            |
| HEM (%)            | 15,42                      | 14,51             | 13,41            | 12,12              | 11,02            |
| Ca (%)             | 0,56                       | 0,56              | 0,55             | 0,57               | 0,55             |
| P (%)              | 0,32                       | 0,32              | 0,35             | 0,34               | 0,34             |

<sup>1</sup>Tratamento controle sem adição de glicerina; <sup>2</sup>Adição de 7,5% de glicerina na MS da dieta; <sup>3</sup>Adição de 15% de glicerina na MS da dieta; <sup>4</sup>Adição de 22,5% de glicerina na MS da dieta; <sup>5</sup>Adição de 30,0% de glicerina na MS da dieta.

Foi utilizada a técnica de indicadores internos fibra em detergente neutro indigestível e fibra em detergente ácido indigestível (FDNi e FDAi, respectivamente) para a estimativa dos valores de digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, extrato etéreo, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido.

As colheitas de alimentos, sobras e fezes foram realizadas nos três primeiros dias da sexta semana do ensaio de desempenho, foram pré-secas à 55°C por 72 horas e formaram amostras compostas por animal. As amostras de fezes foram colhidas no momento da defecação (representativo de 24 horas durante os 3 dias de colheita) para que não houvesse nenhum tipo de estresse que pudesse interferir no consumo de alimentos e, conseqüentemente, no desempenho dos animais.

As porcentagens de FDNi e FDAi foram quantificadas após 264 horas de incubação “in situ” (CASALI et al., 2008), utilizando sacos de náilon (14 x 7 cm) contendo 4,5 g de matéria seca de amostra.

Após a incubação, os sacos foram lavados manualmente em água corrente até que todo o resíduo de conteúdo ruminal fosse eliminado. Então, os sacos foram secos em estufa à 55°C e novamente pesados para se determinar o desaparecimento da MS. As amostras foram retiradas dos sacos e moídas a 1 mm para que fossem analisadas quanto aos teores de FDN e FDA (GOERING & VAN SOEST, 1970), utilizando-se de autoclave, de acordo com procedimento adaptado de PELL & SCHOFIELD (1993) (0,5 Kg/cm<sup>2</sup>, 111°C por 50 minutos).

Os coeficientes de digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes foram calculados utilizando-se das seguintes fórmulas:

$$\text{CD MS} = (1 - (\% \text{FDNi alimento} / \% \text{FDNi fezes})) \times 100;$$

$$\text{CD Nutriente} = (1 - (\% \text{FDNi alimento} / \% \text{FDNi fezes}) \times (\% \text{nutriente fezes} / \% \text{nutriente alimento})) \times 100$$

Para o cálculo por FDAi, foram substituídos FDNi por FDAi nas fórmulas acima.

Em ocasião do ensaio de degradabilidade, cinco bovinos da raça Nelore, castrados e com aproximadamente 24 meses e 400 kg de peso corporal e dotados de cânulas ruminais permanentes foram utilizados. Os animais foram alojados em baias individuais com piso concretado, semicobertas, equipadas com cochos e bebedouros individuais e distribuídos em um delineamento em quadrado latino (5 × 5) em que receberam um dos 5 tratamentos em cada período de 30 dias.

O período de adaptação dos animais às dietas experimentais foi de 14 dias e os outros 16 dias do período foram destinados às incubações. Durante cada período os animais receberam cerca de 8 kg de matéria seca, em que foram observados escores de cocho entre 0 e 1, ou seja, fina camada residual de alimentos (PRITCHARD, 1993). Foram ofertadas duas refeições diárias as 8:00h e as 17:00h.

Foi utilizada a técnica de degradação ruminal “in situ” (ØRSKOV & MCDONALD, 1979), usando sacos de poliéster 100% poliamida, com poros de 50 micrometros, com área disponível correspondendo a 14,0 x 7,0 cm, contendo aproximadamente 20 mg

MS/cm<sup>2</sup>. A silagem foi moída passando em peneira com perfurações de 5 mm de diâmetro e os demais ingredientes a 2 mm.

Os tempos de permanência no rúmen utilizados para a silagem de milho foram: 6; 12; 24; 48; 72; 96 e 120 horas. Para o milho foram utilizados os tempos de 3; 6; 12; 24 e 48 horas. A casca de soja foi incubada por 3; 6; 12; 24; 48 e 72 horas e o farelo de girassol por 3; 6; 12; 24; 48; 72; 96 e 120 horas. Os sacos de náilon (três por ingrediente por horário) foram inseridos às 8 horas no rúmen, em ordem inversa de tempo, presos a uma corrente.

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 cuidadosamente em água corrente. Após esta etapa, os sacos contendo os resíduos da incubação foram mantidos em estufa com circulação e renovação de ar à temperatura de 55°C por 72 horas e, após essa etapa, foram pesados quando estavam secos e em equilíbrio com a temperatura ambiente.

As frações solúveis foram determinadas lavando-se os sacos em líquido ruminal autoclavado, com as amostras separadamente, sem prévia incubação (EZEQUIEL et al., 2002). Os resíduos foram secos em estufa de circulação e renovação de ar a 55°C por 72 horas.

Para avaliação da degradação potencial das variáveis foi utilizado o modelo proposto por ØRSKOV & MCDONALD (1979);  $p = a + b (1 - e^{ct})$ , em que,  $p$  = degradação potencial do componente nutritivo, em porcentagem;  $a$  = fração solúvel, em porcentagem;  $b$  é a fração insolúvel potencialmente degradável, em porcentagem;  $a + b$  = potencial de digestão do componente nutritivo;  $c$  = 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:  $P = a + b (c/(c + k))$ , em que,  $P$  = degradação efetiva, em porcentagem;  $k$  = taxa de passagem (2, 5 e 8%/h) das frações nutritivas e  $a$ ,  $b$  e  $c$ , as mesmas constantes da equação anteriormente descrita.

No Laboratório de Ingredientes e Gases Poluentes pertencente à Unidade Animal de Estudos Digestivos e Metabólicos do Departamento de Zootecnia da FCAV/Unesp, Câmpus de Jaboticabal, foram realizadas as análises laboratoriais dos resíduos da incubação, para determinar a degradabilidade da MS, MO, PB, FDN e FDA (SILVA & QUEIROZ, 2002).

Os dados foram analisados com o procedimento GLM do programa estatístico SAS (1999), em que foram determinados os efeitos linear e quadrático da inclusão de glicerina nas dietas, bem como o contraste do tratamento controle (sem adição de glicerina) *versus* os tratamentos contendo glicerina. A significância foi declarada  $P \leq 0,05$ .

## Resultados e discussão

Não houve efeito da adição de glicerina bruta sobre a digestibilidade aparente da MS, MO, EE e FDA, quando estimados pelo indicador interno FDNi (Tabela 3). Porém, foi observado efeito linear crescente ( $P > 0,01$ ) na digestibilidade da proteína bruta e quando realizada a análise do contraste  $0 \times \text{GLI}$ , foi detectado que, independentemente da concentração de glicerina utilizada, os valores de digestibilidade da proteína bruta foram maiores, porém isso não contribuiu para o aumento de  $\text{N-NH}_3$  disponível no rúmen (Capítulo 5).

Com relação à digestibilidade da FDN, foi identificado efeito linear decrescente ( $P < 0,05$ ), em que o valor observado para o tratamento com inclusão de 30% de glicerina apresentou diminuição de 11,38% em relação ao tratamento controle. O mesmo efeito foi observado, e com maior intensidade ( $P < 0,01$ ), quando foi avaliada a digestibilidade da hemicelulose, a qual apresentou queda de 5,37 pontos percentuais na digestibilidade do tratamento controle até o que continha 30% de glicerina.

Resultados semelhantes foram obtidos por D'AUREA (2010), quando ao adicionar 0, 10 ou 20% de glicerina bruta na dieta de novilhas da raça Nelore, observou diminuição na digestibilidade aparente da FDN e da hemicelulose, sendo os valores do

tratamento com 20% de glicerina (42,3 e 54,2%, respectivamente) próximos aos obtidos no presente estudo. PARSONS & DROUILLARD (2010), incluindo 0, 2 ou 4% de glicerina bruta em dietas de novilhas, também observaram efeito linear negativo sobre a digestibilidade da FDN.

Tabela 3. Digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, extrato etéreo e hemicelulose em bovinos alimentados ou não com glicerina bruta, obtidas através do indicador interno FDNi

| Item <sup>5</sup> | Glicerina Bruta, (%) |       |       |       |       | Contraste      |                |                      | EPM <sup>4</sup> |
|-------------------|----------------------|-------|-------|-------|-------|----------------|----------------|----------------------|------------------|
|                   | 0                    | 7,5   | 15    | 22,5  | 30    | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0 × GLI <sup>3</sup> |                  |
| MS                | 64,53                | 63,66 | 65,36 | 66,09 | 65,24 | NS             | NS             | NS                   | 2,71             |
| MO                | 70,83                | 69,14 | 69,46 | 69,46 | 68,28 | NS             | NS             | NS                   | 1,72             |
| PB                | 56,16                | 59,14 | 61,88 | 60,42 | 62,68 | **             | NS             | *                    | 4,11             |
| FDN               | 51,32                | 55,53 | 47,12 | 44,57 | 45,48 | *              | NS             | NS                   | 7,47             |
| FDA               | 30,71                | 33,05 | 30,50 | 32,40 | 34,81 | NS             | NS             | NS                   | 3,59             |
| EE                | 88,08                | 86,17 | 88,69 | 87,37 | 87,56 | NS             | NS             | NS                   | 1,46             |
| HEM               | 54,89                | 56,10 | 53,96 | 49,52 | 48,59 | **             | NS             | *                    | 2,60             |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle × tratamentos com glicerina. <sup>4</sup>Erro padrão da média. \*<0,05; \*\*<0,01, NS = Não significativo. <sup>5</sup>Digestibilidade (%).

EL-NOR et al. (2010) ao avaliarem a inclusão de 0; 3,6; 7,2 ;ou 10,8% de glicerina em dietas com 60% de feno de alfafa para vacas da raça Holandesa, não verificaram efeito sobre a digestibilidade “in vitro” da matéria seca, porém quando adicionados 7,2 ou 10,8% de glicerina, houve diminuição ( $P<0,05$ ) na digestibilidade “in vitro” da FDN e diminuição nas populações das bactérias *B. fibrisolvens* e *S. ruminantium*.

SCHNEIDER (2010), trabalhando com novilhas mestiças alimentadas com 0, 4, ou 8% de glicerina bruta, observou decréscimo linear ( $P<0,01$ ) nas digestibilidades da MS, MO e FDN.

LAGE et al. (2010) observaram efeito quadrático ( $P<0,05$ ) dos níveis de glicerina bruta na dieta sobre a digestibilidade da FDNcp, com a obtenção de digestibilidade mínima de 38,44%, quando incluiu 7,3 % de glicerina na dieta de ovinos.

WANG et al. (2009) forneceram 0, 100, 200, ou 300 g de glicerina para bovinos e observou efeito quadrático sobre a digestibilidade da MS, MO e PB, FDN e FDA, em que os valores encontrados para as concentrações intermediárias foram melhores quando comparados ao tratamento com maior quantidade de glicerina e o tratamento controle. Em contrapartida, HAMPY (2007), ao fornecer 0, 5, ou 10% de glicerina para caprinos de corte não observou efeito sobre a digestibilidade da MS e tampouco da FDN das dietas, e quando realizou experimento “in vitro” com concentrações maiores de glicerina (até 20%) também não observou efeito deletério na digestibilidade da FDN (HAMPY et al., 2007).

Comportamento semelhante foi observado quando se utilizou o indicador interno FDAi para estimar os coeficientes de digestibilidade (Tabela 4). Porém, o indicador FDAi foi mais sensível em detectar a redução da digestibilidade da FDN ( $P < 0,01$ ), e não se detectou efeito no contraste  $0 \times \text{GLI}$  para a digestibilidade da hemicelulose, sendo que apenas os tratamentos com 22,5 e 30% de inclusão de glicerina contribuíram para a diminuição da digestibilidade deste nutriente.

Tabela 4. Digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, extrato etéreo e hemicelulose em bovinos alimentados ou não com glicerina bruta, obtidas através do indicador interno FDAi

| Item <sup>5</sup> | Glicerina Bruta, (%) |       |       |       |       | Contraste      |                |                                    | EPM <sup>4</sup> |
|-------------------|----------------------|-------|-------|-------|-------|----------------|----------------|------------------------------------|------------------|
|                   | G0                   | G7,5  | G15   | G22,5 | G30   | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | $0 \times \text{GLI}$ <sup>3</sup> |                  |
| MS                | 63,76                | 64,64 | 63,96 | 65,69 | 65,82 | NS             | NS             | NS                                 | 2,86             |
| MO                | 68,87                | 69,64 | 68,73 | 68,73 | 69,98 | NS             | NS             | NS                                 | 1,47             |
| PB                | 56,11                | 60,05 | 61,16 | 61,89 | 62,18 | **             | NS             | **                                 | 3,62             |
| FDN               | 51,54                | 54,85 | 50,09 | 45,99 | 45,27 | **             | NS             | NS                                 | 4,27             |
| FDA               | 29,82                | 34,40 | 30,89 | 32,74 | 32,28 | NS             | NS             | NS                                 | 3,19             |
| EE                | 86,01                | 85,65 | 86,91 | 85,24 | 87,45 | NS             | NS             | NS                                 | 2,81             |
| HEM               | 54,42                | 54,70 | 54,39 | 50,06 | 49,28 | **             | NS             | NS                                 | 2,49             |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle  $\times$  tratamentos com glicerina. <sup>4</sup>Erro padrão da média. \* $< 0,05$ ; \*\* $< 0,01$ , NS = Não significativo. <sup>5</sup>Digestibilidade (%).

Não houve efeito ( $P > 0,05$ ) da inclusão de glicerina sobre os parâmetros de degradação da matéria seca da casca de soja, farelo de girassol e milho (Tabela 5).

Tabela 5. Parâmetros de degradação da MS dos ingredientes em bovinos alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta

| <b>Ingrediente</b> | <b>A</b>         | <b>B</b>        | <b>C</b>        | <b>K</b>       | <b>DP</b>       | <b>DE2</b>      | <b>DE5</b>      | <b>DE8</b>      |
|--------------------|------------------|-----------------|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Casca de soja      | 16,58<br>(1,69)* | 50,62<br>(3,48) | 32,79<br>(2,58) | 4,54<br>(0,45) | 67,20<br>(2,58) | 51,73<br>(1,95) | 40,62<br>(1,76) | 34,87<br>(1,66) |
| Farelo de girassol | 30,42<br>(3,57)  | 36,68<br>(5,65) | 32,90<br>(2,86) | 6,52<br>(0,63) | 67,10<br>(2,85) | 58,48<br>(2,25) | 51,18<br>(1,86) | 46,90<br>(1,81) |
| Milho              | 23,97<br>(2,69)  | 50,92<br>(2,80) | 25,11<br>(1,94) | 4,40<br>(0,33) | 74,89<br>(1,94) | 58,27<br>(4,50) | 47,56<br>(2,55) | 42,03<br>(1,98) |

A=Solúvel. B=Insolúvel potencialmente degradável. C=Indegradável. K=Taxa de fermentação. DP=Degradabilidade potencial. DE2, 5, 8=degradabilidades efetivas para as taxas de passagem de 2, 5 e 8%/h. \*Erro padrão da média.

O valor médio da fração solúvel (A) da matéria seca da casca de soja encontrada neste estudo (16,8%) foi inferior ao encontrado na pesquisa de MUNIZ (2003), o qual trabalhou com ovinos e relatou valor de 20,2%, e inferior ao valor encontrado por SILVA et al. (1999), que trabalhando com bovinos leiteiros observou valor de 21,6%. Tal diferença pode ser devida à metodologia aplicada na determinação da solubilidade, já que neste estudo foi utilizado líquido ruminal autoclavado ao invés de utilizar água.

No que diz respeito às frações solúvel, potencialmente degradável e indegradável, os valores médios encontrados foram, respectivamente, 56,6 e 32,8% evidenciando que, apesar do valor alto de FDN contido deste ingrediente (68%), pode ser efetivamente aproveitado pelo animal. Pelos resultados obtidos é possível sugerir que a casca de soja tem potencial de substituir parcialmente tanto ingredientes volumosos como concentrados energéticos.

Os valores observados para a fração solúvel da matéria seca da silagem de milho (47,2%) foram semelhantes aos encontrados por FONTES (2005), a qual relatou valor de 46,5%, trabalhando com bovinos de corte, e ao valor descrito por EZEQUIEL et al. (2002), os quais observaram valor de 52,6%.

Houve efeito linear negativo ( $P < 0,05$ ) da inclusão de glicerina sobre a degradabilidade efetiva (DE) da matéria seca da silagem de milho quando estimada utilizando taxa de passagem de 5%/h (Tabela 6). O valor encontrado no tratamento com

inclusão de 30% de glicerina foi de 56%, valor este que apesar de ser o menor encontrado neste estudo, é superior ao de outros trabalhos como o de KATSUKI et al. (2006), que trabalharam com bovinos da raça Holandesa e encontraram o valor de 44,5%. Portanto, mesmo ocorrendo diminuição na DE, o valor encontrado ainda é satisfatório.

Tabela 6. Parâmetros de degradação da MS da silagem de milho em bovinos alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta

| Item | Tratamentos (% glicerina) |       |       |       |       | Contrastes     |                |                      | EPM <sup>4</sup> |
|------|---------------------------|-------|-------|-------|-------|----------------|----------------|----------------------|------------------|
|      | G0                        | G7,5  | G15   | G22,5 | G30   | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0 x GLI <sup>3</sup> |                  |
| A    | 49,5                      | 45,59 | 48,32 | 46,15 | 46,55 | NS             | NS             | NS                   | 2,72             |
| B    | 24,37                     | 30,98 | 28,09 | 28,87 | 26,36 | NS             | NS             | NS                   | 5,46             |
| C    | 26,13                     | 23,42 | 23,59 | 24,98 | 27,09 | NS             | NS             | NS                   | 3,34             |
| K    | 2,79                      | 2,95  | 2,85  | 2,59  | 3,09  | NS             | NS             | NS                   | 0,26             |
| DP   | 73,87                     | 76,58 | 76,41 | 75,02 | 72,91 | NS             | NS             | NS                   | 3,34             |
| DE2  | 63,68                     | 64,04 | 64,84 | 62,39 | 62,46 | NS             | NS             | NS                   | 1,52             |
| DE5  | 58,22                     | 57,08 | 58,54 | 55,97 | 56,54 | *              | NS             | NS                   | 1,29             |
| DE8  | 55,79                     | 53,94 | 55,72 | 53,19 | 53,84 | NS             | NS             | NS                   | 1,54             |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle x tratamentos com glicerina. <sup>4</sup>Erro padrão da média, \*P<0,05; \*\*P<0,01. NS = Não significativo. A=Solúvel. B=Insolúvel potencialmente degradável. C=Indegradável. K=Taxa de fermentação. DP=Degradabilidade potencial. DE2, 5, 8=degradabilidades efetivas para as taxas de passagem de 2, 5 e 8%/h.

WANG et al. (2009) estudaram a degradabilidade do rolão de milho e da mistura concentrada, utilizados na alimentação de bovinos da raça Simental e forneceram 0, 100, 200, ou 300 g de glicerina (99% de pureza) por animal por dia. Esses autores observaram que para o rolão de milho, as frações A e B da matéria seca foram quadraticamente alteradas enquanto houve um incremento linear na degradação efetiva com o aumento da dose de glicerina administrada. Para a mistura concentrada (milho, farelo de trigo, farelo de soja, torta de algodão e colza) foi observado aumento linear da fração solúvel e da degradabilidade efetiva, diminuição da degradabilidade potencial.

Não houve efeito (P>0,05) da inclusão de glicerina sobre os parâmetros de degradação da matéria orgânica do farelo de girassol, do milho e da silagem de milho (Tabela 7).

Tabela 7. Parâmetros de degradação da MS dos ingredientes em bovinos alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta

| <b>Ingrediente</b> | <b>A</b> | <b>B</b> | <b>C</b> | <b>K</b> | <b>DP</b> | <b>DE 2</b> | <b>DE 5</b> | <b>DE 8</b> |
|--------------------|----------|----------|----------|----------|-----------|-------------|-------------|-------------|
| Casca de soja      | 14,59    | 54,91    | 30,53    | 4,78     | 69,36     | 53,23       | 41,36       | 35,07       |
|                    | (0,93)*  | (2,99)   | (2,35)   | (0,32)   | (2,35)    | (1,55)      | (1,19)      | (1,02)      |
| Farelo de girassol | 29,16    | 40,69    | 30,14    | 6,61     | 69,85     | 60,29       | 52,21       | 47,47       |
|                    | (3,39)   | (3,63)   | (1,73)   | (1,10)   | (1,73)    | (1,60)      | (1,95)      | (2,18)      |
| Milho              | 21,46    | 59,67    | 18,87    | 4,57     | 81,14     | 62,90       | 49,91       | 43,12       |
|                    | (1,98)   | (2,54)   | (1,36)   | (0,33)   | (1,36)    | (1,42)      | (1,57)      | (1,61)      |
| Silagem de milho   | 45,00    | 33,65    | 21,37    | 3,29     | 78,63     | 65,49       | 58,33       | 54,79       |
|                    | (2,38)   | (3,36)   | (2,43)   | (0,33)   | (3,09)    | (2,03)      | (2,05)      | (2,09)      |

A=Solúvel. B=Insolúvel potencialmente degradável. C=Indegradável. K=Taxa de fermentação. DP=Degradabilidade potencial. DE2, 5, 8=degradabilidades efetivas para as taxas de passagem de 2, 5 e 8%/h. \*Erro padrão da média.

De modo geral, os valores observados seguiram o mesmo comportamento dos observados nos parâmetros de degradação da matéria seca dos ingredientes em questão.

As degradabilidades efetiva (41,4%) e potencial (69,4%) da matéria orgânica da casca de soja observadas neste estudo foram menores do que as encontradas por SILVA et al. (1999), os quais relataram valores de 51,1% e 88,1%, respectivamente.

Não houve efeito ( $P>0,05$ ) da inclusão da glicerina bruta sobre os parâmetros de degradação da proteína bruta da casca de soja, do milho e da silagem de milho (Tabela 8).

Apesar do baixo valor proteico da silagem de milho (cerca de 7%, neste estudo), os resultados da degradabilidade da proteína bruta deste ingrediente foram extremamente interessantes, apresentando valores médios de 75,3, 71,1 e 69,5%, para as taxas de passagem 2, 5 e 8%/h.

A proteína bruta do farelo de girassol (Tabela 9) apresentou elevado valor de solubilidade (52,97%). A solubilidade proteica pode ser vantajosa, pois o perfil aminoacídico da fração solúvel pode ser diferente daquela presente na porção degradável (GALATI, 2004).

Tabela 8. Parâmetros de degradação da proteína bruta da casca de soja, milho e silagem de milho em bovinos alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta

| Ingrediente      | A       | B      | C      | K      | DP     | DE 2   | DE 5   | DE 8   |
|------------------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Casca de soja    | 30,33   | 41,51  | 28,16  | 5,64   | 71,84  | 60,90  | 52,27  | 47,44  |
|                  | (2,41)* | (3,06) | (2,05) | (0,59) | (2,05) | (1,82) | (1,90) | (2,41) |
| Milho            | 23,48   | 48,53  | 27,99  | 4,26   | 72,01  | 56,63  | 45,97  | 40,50  |
|                  | (2,16)  | (2,93) | (2,15) | (0,38) | (2,15) | (1,75) | (1,70) | (1,71) |
| Silagem de milho | 64,11   | 17,79  | 18,10  | 3,51   | 81,90  | 75,26  | 71,32  | 69,48  |
|                  | (3,04)  | (2,75) | (1,54) | (1,14) | (1,64) | (1,71) | (2,03) | (2,20) |

A=Solúvel. B=Insolúvel potencialmente degradável. C=Indegradável. K=Taxa de fermentação. DP=Degradabilidade potencial. DE2, 5, 8=degradabilidades efetivas para as taxas de passagem de 2, 5 e 8%/h. \*Erro padrão da média.

Foi observado efeito quadrático da inclusão da glicerina sobre a taxa de fermentação do ingrediente (Tabela 9), em que os maiores valores foram observados para os tratamentos com 15 e 22,5% de inclusão de glicerina, os quais apresentaram valores de 8,36 e 9,05, respectivamente. Esses valores, apesar de serem elevados, estão aquém dos encontrados por FONTES (2005), que observou valor médio de 10,83%, trabalhando com dietas sem glicerina.

Tabela 9. Parâmetros de degradação da proteína bruta do farelo de girassol em bovinos alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta

| Item | Tratamentos (% glicerina) |       |       |       |       | Contrastes     |                |                      | EPM <sup>4</sup> |
|------|---------------------------|-------|-------|-------|-------|----------------|----------------|----------------------|------------------|
|      | G0                        | G7,5  | G15   | G22,5 | G30   | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0 × GLI <sup>3</sup> |                  |
| A    | 50,54                     | 51,87 | 51,48 | 50,73 | 52,56 | NS             | NS             | NS                   | 1,86             |
| B    | 43,77                     | 41,50 | 42,23 | 43,29 | 41,39 | NS             | NS             | NS                   | 1,82             |
| C    | 5,68                      | 6,63  | 6,24  | 5,97  | 6,05  | NS             | NS             | NS                   | 1,09             |
| K    | 7,61                      | 8,24  | 8,36  | 9,05  | 8,25  | **             | *              | NS                   | 0,46             |
| DP   | 94,31                     | 93,36 | 93,71 | 94,03 | 93,95 | NS             | NS             | NS                   | 1,09             |
| DE2  | 85,21                     | 85,26 | 85,57 | 86,18 | 85,86 | NS             | NS             | NS                   | 1,30             |
| DE5  | 76,97                     | 77,69 | 77,93 | 78,61 | 78,62 | NS             | NS             | NS                   | 1,50             |
| DE8  | 71,90                     | 72,93 | 73,09 | 73,70 | 73,57 | NS             | NS             | NS                   | 1,59             |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle × tratamentos com glicerina. <sup>4</sup>Erro padrão da média, \*P<0,05; \*\*P<0,01. NS = Não significativo. A=Solúvel. B=Insolúvel potencialmente degradável. C=Indegradável. K=Taxa de fermentação. DP=Degradabilidade potencial. DE2, 5, 8=degradabilidades efetivas para as taxas de passagem de 2, 5 e 8%/h.

A degradabilidade potencial da proteína bruta do farelo de girassol foi elevada (93,8%), independente do tratamento, demonstrando que esse nutriente pode ser extensamente degradado no rúmen.

Independente dos tratamentos, os valores encontrados para os parâmetros de degradabilidade da FDN da casca de soja (Tabela 10), neste experimento, estão aquém dos encontrados por SILVA et al. (2004), sendo que os valores observados por esses autores para A, B, k, DE 2, DE 5 e DE 8 foram, respectivamente, 18,7; 69,9; 6,2; 71,6; 57,4 e 49,3, enquanto os encontrados neste estudo foram, respectivamente 13,1; 47,0; 4,8; 47,7; 37,1 e 30,7.

No farelo de girassol, o efeito da adição de glicerina bruta nas dietas dos animais sobre a degradabilidade da FDN foi semelhante ao observado na casca de soja. Houve efeito linear crescente ( $P < 0,01$ ) sobre a fração C e efeito linear decrescente ( $P < 0,01$ ) sobre a fração B e sobre as degradabilidades potencial e efetiva (independente da taxa de passagem considerada). Esse fato se torna de fundamental importância, uma vez que a contribuição do farelo de girassol quanto aos teores de FDN das dietas foi aumentado, com o aumento na inclusão de glicerina bruta nas dietas, para repor a proteína bruta perdida com a substituição do milho.

A glicerina provocou queda na disponibilidade e aproveitamento da fração fibrosa do farelo de girassol (Tabela 10), porém proporcionou valores para fração B, DP, DE 5 e DE 8, semelhantes aos encontrados por FONTES (2005), que foram em média 33,3, 39,0, 24,8 e 21,2, respectivamente.

Com relação à silagem de milho, foi observado efeito linear crescente ( $P < 0,01$ ) na fração C da FDN, concomitantemente ao efeito linear decrescente ( $P < 0,01$ ) na fração B, fazendo com que o tratamento controle fosse diferente dos tratamentos com glicerina, visto que o contraste controle  $\times$  glicerina foi significativo para a fração B (Tabela 10).

WANG et al. (2009) relataram aumento linear da fração solúvel da FDN do rolão de milho em bovinos da raça Simental alimentados com até 300 g de glicerina, no entanto, esses autores observaram que a fração B e a degradabilidade efetiva da FDN

apresentaram efeito quadrático sendo que houve melhoria até os valores intermediários de inclusão de glicerina e queda, quando a dose mais elevada foi administrada.

Tabela 10. Parâmetros de degradação da FDN dos ingredientes em bovinos alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta

| Item               | Tratamentos (% glicerina) |       |       |       |       | Contrastes     |                |                      | EPM <sup>4</sup> |
|--------------------|---------------------------|-------|-------|-------|-------|----------------|----------------|----------------------|------------------|
|                    | G0                        | G7,5  | G15   | G22,5 | G30   | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0 × GLI <sup>3</sup> |                  |
| Casca de soja      |                           |       |       |       |       |                |                |                      |                  |
| A                  | 12,47                     | 14,06 | 13,12 | 12,48 | 13,30 | NS             | NS             | NS                   | 0,21             |
| B                  | 51,25                     | 49,62 | 49,43 | 42,24 | 42,64 | **             | NS             | **                   | 3,19             |
| C                  | 36,27                     | 36,32 | 37,45 | 45,29 | 44,05 | **             | NS             | *                    | 3,42             |
| K                  | 4,95                      | 4,89  | 4,77  | 4,51  | 4,86  | NS             | NS             | NS                   | 0,51             |
| DP                 | 63,72                     | 63,68 | 62,55 | 54,72 | 55,95 | **             | NS             | *                    | 3,41             |
| DE2                | 50,52                     | 50,03 | 47,80 | 43,50 | 46,42 | **             | NS             | **                   | 1,96             |
| DE5                | 39,05                     | 39,15 | 37,11 | 33,69 | 36,36 | **             | NS             | **                   | 1,43             |
| DE8                | 31,99                     | 32,88 | 31,46 | 27,63 | 29,39 | **             | NS             | NS                   | 1,64             |
| Farelo de girassol |                           |       |       |       |       |                |                |                      |                  |
| A                  | 6,40                      | 5,98  | 6,45  | 6,65  | 6,29  | NS             | NS             | NS                   | 0,7              |
| B                  | 42,36                     | 41,78 | 37,09 | 32,22 | 31,22 | **             | NS             | **                   | 3,14             |
| C                  | 51,23                     | 52,23 | 56,45 | 61,12 | 62,47 | **             | NS             | **                   | 3,1              |
| K                  | 6,23                      | 6,77  | 6,78  | 6,84  | 6,36  | NS             | NS             | NS                   | 0,61             |
| DP                 | 48,77                     | 47,77 | 43,55 | 38,87 | 37,52 | **             | NS             | **                   | 3,11             |
| DE2                | 40,48                     | 39,19 | 35,66 | 32,08 | 30,35 | **             | NS             | **                   | 2,77             |
| DE5                | 31,46                     | 30,72 | 28,24 | 25,67 | 23,97 | **             | NS             | **                   | 2,16             |
| DE8                | 24,96                     | 25,05 | 23,44 | 21,52 | 20,04 | **             | NS             | *                    | 1,69             |
| Silagem do milho   |                           |       |       |       |       |                |                |                      |                  |
| A                  | 14,21                     | 13,84 | 14,53 | 14,03 | 15,03 | NS             | NS             | NS                   | 1,29             |
| B                  | 42,72                     | 42,37 | 41,98 | 39,11 | 35,93 | **             | NS             | *                    | 2,6              |
| C                  | 43,06                     | 43,58 | 43,47 | 46,85 | 49,03 | **             | NS             | NS                   | 2,85             |
| K                  | 3,19                      | 3,13  | 3,35  | 2,99  | 3,18  | NS             | NS             | NS                   | 0,31             |
| DP                 | 56,94                     | 56,41 | 56,52 | 53,15 | 50,97 | **             | NS             | NS                   | 2,86             |
| DE2                | 42,96                     | 40,67 | 40,8  | 40,03 | 40,26 | NS             | NS             | NS                   | 2,41             |
| DE5                | 32,36                     | 30,80 | 31,36 | 30,24 | 30,94 | NS             | NS             | NS                   | 1,69             |
| DE8                | 26,38                     | 25,79 | 26,92 | 24,66 | 25,26 | NS             | NS             | NS                   | 1,41             |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle x tratamentos com glicerina. <sup>4</sup>Erro padrão da média, \*P<0,05; \*\*P<0,01. NS = Não significativo. A=Solúvel. B=Insolúvel potencialmente degradável. C=Indegradável. K=Taxa de fermentação. DP=Degradabilidade potencial. DE2, 5, 8=degradabilidades efetivas para as taxas de passagem de 2, 5 e 8%/h.

Em relação aos parâmetros de degradação do FDA, não foram evidenciados efeitos (P<0,05) nos ingredientes casca de soja e farelo de girassol (Tabela 11), oposto

ao que ocorreu com o FDN. Porém, quando se avaliou a silagem de milho, foi observado efeito em relação à fração C, uma vez que o valor médio observado no tratamento controle foi significativamente maior do que os observados nos tratamentos com glicerina, os quais não foram diferentes entre si (Tabela 12).

Tabela 11. Parâmetros de degradação da FDA da casca de soja e farelo de girassol em bovinos alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta

| Ingrediente        | A       | B      | C      | K      | DP     | DE 2   | DE 5   | DE 8   |
|--------------------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Casca de soja      | 10,83   | 43,36  | 45,80  | 4,16   | 54,19  | 40,02  | 30,44  | 25,59  |
|                    | (0,99)* | (3,29) | (3,05) | (0,27) | (3,05) | (2,20) | (1,73) | (1,50) |
| Farelo de girassol | 5,82    | 30,33  | 63,84  | 5,99   | 36,15  | 28,55  | 22,35  | 18,81  |
|                    | (0,56)  | (1,58) | (2,97) | (0,36) | (1,90) | (2,85) | (1,38) | (1,23) |

A=Solúvel. B=Insolúvel potencialmente degradável. C=Indegradável. K=Taxa de fermentação. DP=Degradabilidade potencial. DE2, 5, 8=degradabilidades efetivas para as taxas de passagem de 2, 5 e 8%/h. \*Erro padrão da média.

PIRES et al. (2010) avaliaram a degradabilidade “in situ” da silagem de milho, em bovinos da raça Nelore e observaram valor médio para a fração C da silagem de milho de 38,5%, valor este muito inferior ao encontrado no presente estudo, o qual foi de 51,1%.

Tabela 12. Parâmetros de degradação da FDA da silagem de milho em bovinos alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta

| Item | Tratamentos (% glicerina) |       |       |       |       | Contrastes     |                |                      | EPM <sup>4</sup> |
|------|---------------------------|-------|-------|-------|-------|----------------|----------------|----------------------|------------------|
|      | G0                        | G7,5  | G15   | G22,5 | G30   | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0 × GLI <sup>3</sup> |                  |
| A    | 10,87                     | 11,42 | 12,07 | 10,89 | 11,53 | NS             | NS             | NS                   | 1,26             |
| B    | 36,15                     | 38,49 | 36,92 | 37,78 | 37,93 | NS             | NS             | NS                   | 1,74             |
| C    | 52,98                     | 50,09 | 51,01 | 51,32 | 50,53 | NS             | NS             | *                    | 1,62             |
| K    | 2,81                      | 2,8   | 2,76  | 2,55  | 2,75  | NS             | NS             | NS                   | 0,23             |
| DP   | 47,01                     | 49,91 | 48,99 | 48,67 | 49,46 | NS             | NS             | *                    | 1,62             |
| DE2  | 31,99                     | 33,91 | 33,46 | 31,99 | 33,45 | NS             | NS             | NS                   | 1,07             |
| DE5  | 23,88                     | 25,28 | 25,21 | 23,60 | 24,96 | NS             | NS             | NS                   | 0,98             |
| DE8  | 20,27                     | 21,43 | 25,55 | 19,99 | 21,21 | NS             | NS             | NS                   | 0,99             |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle × tratamentos com glicerina. <sup>4</sup>Erro padrão da média, \*P<0,05; \*\*P<0,01; NS = Não significativo. A=Solúvel. B=Insolúvel potencialmente degradável. C=Indegradável. K=Taxa de fermentação. DP=Degradabilidade potencial. DE2, 5, 8=degradabilidades efetivas para as taxas de passagem de 2, 5 e 8%/h.

Em contrapartida a glicerina apresentou efeito benéfico com relação à degradabilidade potencial da FDA da silagem de milho, sendo que os tratamentos com glicerina tomados conjuntamente apresentaram valores médios de DP superiores ( $P < 0,05$ ) ao observado no tratamento controle (Tabela 12).

## Conclusão

A inclusão de até 30% de glicerina bruta em dietas de terminação para bovinos da raça Nelore promove efeito negativo na digestibilidade e nos parâmetros de degradação da fração fibrosa, principalmente da FDN.

## Referências

BRODERICK, G. A. Methodology for the determining ruminal degradability of feed proteins. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS EM RUMINANTES, 1995, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, p.139-176,1995.

CARVALHO, G.G.P. et al. Degradabilidade ruminal do feno de forrageiras tropicais. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.12, n.1, p.81-85, 2006.

CASALI, A.O. et al. 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.

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.

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.

EL-NOR, S.A. et al. Effect of differing levels of glycerol on rumen fermentation and bacteria. **Animal Feed Science and Technology**, v.162, p.99-105, 2010.

EVANGELISTA, A.R. et al. Degradabilidade ruminal da matéria seca e proteína bruta de cultivares de alfafa (*Medicago sativa* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, v.26, n.6, p.1281-1288, 2002.

EZEQUIEL, J.M.B. et al. Solubilidade da matéria seca e proteína em diferentes solventes. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 39, 2002, Recife. **Anais...** Recife: SBZ, 2002. CD ROM.

FONTES, N.A. Milho, casca de soja e polpa cítrica associados ao farelo de girassol ou ureia em dietas para bovinos. 2005. 60f. **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, 2005.

GALATI, R.L. Co-Produtos do milho, soja e girassol, para bovinos de corte. 2004. 168f. **Tese** (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004.

GOERING, H. G. & VAN SOEST, P. J. **Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications)**. Washington, Agricultural Research Service, 1970, 20 p. (Agriculture Handbook, 379).

HAMPY, K.R. Effect of crude glycerin on ruminal digestion of forages. 47f. **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia). University of Arkansas, Fayetteville, Arkansas, 2007.

HAMPY, K.R. et al. In vitro DM digestibility of crabgrass, bermudagrass, and wheat forages supplemented with four levels of glycerol. **Arkansas Agriculture Experimental Station**. Research Series 553, p.65-66, 2007.

KATSUKI, P. A. et al. Cinetica ruminal da degradação de nutrientes da silagem de milho em ambiente ruminal inoculada com diferentes aditivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.6, p.2421-2426, 2006.

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

MUNIZ, E. N. Adição de metionina protegida da degradabilidade ruminal em rações para cordeiros alimentados com dois níveis de proteína não dagradável no rúmen. 2003. 69f. **Tese** (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

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

NOCEK, J. E & GRANT, A. L. Characterization of in situ nitrogen and fiber digestion and bacterial nitrogen contamination of hay crop forages preserved at different dry matter percentagem. **Journal Animal Science**, v.64, p.552-564, 1987.

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

PARSONS, G.L. & DROUILLARD, J.S. Effects of crude glycerin on ruminal metabolism and diet digestibility in flaked corn finishing diets. In: 43<sup>rd</sup> Midwestern Meeting of

American Dairy Science Association and American Society of Animal Science, 2010, Des Moines, IA. **Proceeding...** Des Moines, p.15-17, 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, n.2, p. 653-657, 2009.

PELL, A.N. & SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion in vitro. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.9, p.1063-1073, 1993.

PIRES, A.J.V. et al. Degradabilidade ruminal da matéria seca, da proteína bruta e da fração fibrosa de silagens de milho, de sorgo e de *brachiaria brizantha*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.2, p.391-400, 2010.

SAS. **SAS/STAT User's Guide**. Versão 9.1, Edição SAS Institute, Inc., Cary, NC, EUA. 2004.

SCHENEIDER, C.J. Crude glycerin in feedlot cattle diets and as a solvent in maillard reaction processes intended for manufacturing value-added protein meals. 82f. **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia) – Kansas State University, 2010.

SILVA, D.F. et al. Degradabilidade ruminal *in situ* da matéria seca, matéria orgânica e da proteína bruta de alguns alimentos em bovinos. **Semina: Ciências Agrárias**, v.20, n.1, p.25-30, 1999.

SILVA, D.C. et al. Digestibilidade in vitro e degradabilidade in situ da casca do grão de soja, resíduo de soja e casca de algodão. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.26, n.4, p.501-506, 2004.

SILVA, D.J. & QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos** (métodos químicos e biológicos). 3 ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 235p.

WANG, C. et al. Effects of glycerol of rumen fermentation, urinary excretion of purine derivatives and feed digestibility in steers. **Livestock Science**, v.121, n.1, p.15-20, 2009.

## **CAPÍTULO 5 – GLICERINA BRUTA EM DIETAS DE BOVINOS DA RAÇA NELORE CONFINADOS: PARÂMETROS RUMINAIS, PRODUÇÃO DE GASES DE EFEITO ESTUFA, PRODUÇÃO E QUALIDADE DA MASSA MICROBIANA**

**RESUMO** – Cinco bovinos da raça Nelore (400 kg PC, 24 meses de idade), castrados e dotados de cânulas ruminais permanentes, foram utilizados para avaliar a inclusão de doses crescentes de glicerina bruta e seus efeitos sobre pH, N-NH<sub>3</sub>, AGCC, produção de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>, além da produção e qualidade da massa microbiana produzida. Os animais foram submetidos a um dos cinco tratamentos: G0 - controle sem adição de glicerina, G7,5 - 7,5% de glicerina na matéria seca da dieta, G15 - 15% de glicerina na matéria seca da dieta, G22,5 - 22,5% de glicerina na matéria seca da dieta e G30 - 30% de glicerina na matéria seca da dieta. Foram realizados 5 períodos experimentais de 30 dias. Os dados de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> foram analisados utilizando-se do delineamento em quadrado latino 5 × 5. Nas análises de pH, N-NH<sub>3</sub>, AGCC e massa microbiana, foram utilizadas medidas repetidas no tempo. Foram feitas análises de contrastes observando a significância dos modelos linear, quadrático e do tratamento controle × tratamentos com glicerina. A inclusão de até 30% de glicerina bruta promove intensas modificações no ambiente ruminal, uma vez que são aumentadas as concentrações dos ácidos graxos propiônico, valérico e butírico e diminuídas a concentração molar de ácido acético e, consequentemente, a relação acetato:propionato. Além disso, a glicerina promove diminuição da produção “in vitro” dos gases CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>, quando as dietas totais são incubadas por 12 horas, e também promove alterações importantes na produção e na qualidade de microorganismos ruminais, em especial, sólido-aderidos.

**Palavras-chave:** AGCC, CO<sub>2</sub>, metano, nitrogênio amoniacal, pH

## Introdução

A cada dia novos ingredientes são introduzidos na alimentação animal com o objetivo principal de diminuir os custos da produção. Essa ação traz com ela a necessidade de se investigar o aproveitamento dessas novas fontes alimentares para que o desempenho e saúde dos animais não sejam prejudicados.

Uma das formas de se estudar o metabolismo de ingredientes é avaliar os parâmetros ruminais, como pH, nitrogênio amoniacal ( $\text{N-NH}_3$ ) e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC).

O pH ruminal é um os principais fatores que afetam a prevalência dos microrganismos ruminais, e a sua redução destaca-se como a principal causa isolada de efeitos associativos negativos sobre a digestibilidade da ração (ØRSKOV & TYLE, 1990). Devido a isso, o monitoramento do valor de pH ruminal é de fundamental importância, uma vez que os microrganismos ruminais, os quais vão metabolizar os alimentos, necessitam de uma faixa de pH ótimo para realizar sua função e dependem dela para o seu crescimento (CHURCH, 1979). Algumas espécies de microrganismos são sensíveis à variação brusca de pH ou não suportam valores de pH muito baixos ou muito altos.

O mecanismo natural responsável pela estabilização do valor de pH ruminal é a produção de saliva, a qual tampona o meio e facilita a absorção dos ácidos produzidos durante a fermentação por parte da mucosa ruminal (VAN SOEST, 1994). Porém, esses mecanismos muitas vezes não são suficientes para controlar a variação nos valores de pH em animais submetidos a dietas com elevado teor de alimentos concentrados, podendo ocorrer quedas vertiginosas de pH (RUSSEL et al., 1992).

Nesse contexto é importante ressaltar a importância do conhecimento da cinética de digestão dos ingredientes e das dietas para que o nutricionista seja subsidiado no sentido de adequar as dietas em função das possíveis alterações ruminais provocadas na metabolização desses ingredientes.

O nitrogênio amoniacal no líquido ruminal é indispensável para o desenvolvimento da microflora ruminal, e a sua concentração é função do equilíbrio entre as taxas de produção e utilização, absorção e passagem.

A amônia ruminal advém da degradação de proteínas, peptídeos, aminoácidos e outras substâncias nitrogenadas, além da reciclagem via saliva ou difusão pela parede ruminal; enquanto sua remoção pode ser realizada via transformação em proteína microbiana, pela passagem ao trato posterior ou absorção ruminal (HUNGATE, 1966, VAN SOEST, 1994).

SATTER & ROFFLER (1979) e ØRSKOV (1988) para garantir eficiente degradação dos alimentos, sugeriram que a concentração mínima de  $\text{N-NH}_3$  deve ser aproximadamente 5 mg/dL de líquido ruminal para que não haja limitação da fermentação microbiana e consequente prejuízo no aproveitamento da matéria orgânica. Para que a síntese microbiana seja maximizada, MEHREZ et al. (1977) preconizaram a concentração de  $\text{N-NH}_3$  de 23 mg/dL.

LENG (1990), relatou que em condições tropicais, são necessárias concentrações de N superiores a 10 mg/dL, para que haja maximização da digestão ruminal da matéria seca, e superiores a 20 mg/dL, para que ocorra a maximização do consumo de matéria seca. Porém, valores muito elevados e próximos a 100 mg/dL poderiam levar a quadros de intoxicação em ruminantes (SANTOS, 2006).

Existem variações na concentração de nitrogênio amoniacal no tempo após a alimentação, sendo que essa diferença é dependente do tipo de alimento fornecido aos animais (OWENS & ZINN, 1988).

Em estudos preliminares foram observados aumento da concentração de ácido propiônico e butírico e diminuição de ácido acético no rúmen de bovinos alimentados com glicerina bruta (KHALILI et al., 1997), porém os resultados encontrados ainda são controversos.

A avaliação da quantidade e qualidade dos microorganismos ruminais é de grande importância para a nutrição animal, uma vez que os modelos de predição do crescimento e da produção de leite requerem estimativas da síntese proteica microbiana (CECAVA et al., 1990).

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).

Por outro lado, o gás metano é eliminado pelos ruminantes, gerando desperdício de energia da ordem de 6% (JOHNSON & JOHNSON, 1995). Além da perda energética a emissão de metano apresenta apelo ecológico, uma vez que este é um importante gás de efeito estufa, e sua emissão contribui com até 15% do aquecimento global (COTTON & PIELKE, 1995).

Nesse contexto, os objetivos deste ensaio foram avaliar os efeitos de diferentes concentrações de glicerina bruta em dietas para bovinos da raça Nelore em terminação, sobre os valores de pH, concentrações de nitrogênio amoniacal e ácidos graxos de cadeia curta, além de avaliar a produção de gases de efeito estufa e produção e qualidade da massa microbiana.

## **Material e métodos**

O experimento foi conduzido nas dependências da Unidade Animal de Estudos Digestivos e Metabólicos, pertencente ao Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/ Unesp, Câmpus de Jaboticabal.

Cinco bovinos da raça Nelore, castrados, com aproximadamente 24 meses e 400 kg de peso corporal e dotados de cânulas ruminais permanentes foram utilizados nesses ensaios. Os animais foram alojados em baias individuais com piso concretado, semicobertas, equipadas com cochos e bebedouros individuais e distribuídos em um delineamento em quadrado latino ( $5 \times 5$ ), em que receberam um dos 5 tratamentos em cada período de 30 dias.

As cinco dietas experimentais isoproteicas (12,2% PB/MS) e isoenergéticas (2,5 Mcal de EM/kg MS) foram formuladas de acordo com o NRC (1996) e fornecidas na relação volumoso:concentrado 30:70 e denominadas de: Tratamento G0 - controle sem adição de glicerina, Tratamento G7,5 - 7,5% de glicerina na matéria seca da dieta,

Tratamento G15 - 15% de glicerina na matéria seca da dieta, Tratamento G22,5 - 22,5% de glicerina na matéria seca da dieta e Tratamento G30 - 30% de glicerina na matéria seca da dieta.

A glicerina utilizada possuía 86% de glicerol, 95% de matéria seca, cerca de 6% de sais e menos de 0,01% de metanol. O volumoso utilizado foi a silagem de milho e o concentrado composto por milho em grão, casca de soja, farelo de girassol. O sal mineral foi fornecido à vontade nos cochos.

Na Tabela 1 está demonstrada a composição químico-bromatológica dos ingredientes utilizados na formulação das dietas e na Tabela 2 estão as porcentagens dos ingredientes e a estimativa da composição dos tratamentos.

Tabela 1. Matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e energia metabolizável (EM) dos alimentos utilizados na formulação das dietas experimentais

| Ingredientes           | MS*    | PB*   | EE*  | FDN*  | FDA*  | EM <sup>1</sup> |
|------------------------|--------|-------|------|-------|-------|-----------------|
|                        | (%)    | % MS  |      |       |       | Mcal/kg MS      |
| Silagem de milho       | 30,92  | 7,26  | 3,16 | 55,41 | 30,63 | 2,21            |
| Milho                  | 87,94  | 9,11  | 4,07 | 13,98 | 4,08  | 3,10            |
| Farelo de girassol     | 91,10  | 31,50 | 1,50 | 42,36 | 34,90 | 2,17            |
| Glicerina <sup>2</sup> | 80,00  | 0,00  | 0,50 | 0,00  | 0,00  | 3,00            |
| Casca de soja          | 89,80  | 11,65 | 1,60 | 68,40 | 50,52 | 2,42            |
| Sal comum              | 100,00 | 0,00  | 0,00 | 0,00  | 0,00  | 0,00            |
| Calcário calcítico     | 100,00 | 0,00  | 0,00 | 0,00  | 0,00  | 0,00            |
| Fosfato bicálcico      | 100,00 | 0,00  | 0,00 | 0,00  | 0,00  | 0,00            |

\*Análises realizadas no Laboratório de Ingredientes e Gases Poluentes da Unidade Animal de Estudos Digestivos e Metabólicos da FCAV/Unesp. <sup>1</sup>Valores tabelados. <sup>2</sup>Valor estimado.

O período de adaptação dos animais às dietas experimentais foi de 14 dias e os outros 16 dias do período foram destinados às colheitas de conteúdo ruminal e incubações. Durante cada período os animais receberam cerca de 8 kg de matéria seca em que foi observado escore de cocho entre 0 e 1 (PRITCHARD, 1993), divididos em duas refeições diárias, uma às 8:00h e a outra às 17:00h. O concentrado e o volumoso foram pesados separadamente e misturados à glicerina no momento do fornecimento, em cada uma das refeições.

As análises laboratoriais para a quantificação dos valores de pH, concentrações de nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>), ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), gases metano (CH<sub>4</sub>) e dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), além da quantificação e qualificação da massa microbiana, foram realizadas no Laboratório de Ingredientes e Gases Poluentes da Unidade Animal de Estudos Digestivos e Metabólicos pertencente ao Departamento de Zootecnia da FCAV/Unesp, Câmpus de Jaboticabal.

Tabela 2. Porcentagem dos ingredientes e estimativa da composição bromatológica dos tratamentos experimentais (% MS)

| Ingredientes       | Tratamentos         |                   |                  |                    |                  |
|--------------------|---------------------|-------------------|------------------|--------------------|------------------|
|                    | G0 <sup>1</sup>     | G7,5 <sup>2</sup> | G15 <sup>3</sup> | G22,5 <sup>4</sup> | G30 <sup>5</sup> |
| Silagem de milho   | 30,00               | 30,00             | 30,00            | 30,00              | 30,00            |
| Milho              | 35,00               | 25,50             | 18,00            | 12,50              | 5,00             |
| Casca de soja      | 19,20               | 18,05             | 14,55            | 8,90               | 5,45             |
| Farelo de girasol  | 14,60               | 17,8              | 21,30            | 24,90              | 28,4             |
| Glicerina          | 0,00                | 7,50              | 15,00            | 22,50              | 30,00            |
| Sal comum          | 0,50                | 0,50              | 0,50             | 0,50               | 0,50             |
| Calcário calcítico | 0,70                | 0,65              | 0,55             | 0,70               | 0,65             |
| Fosfato bicálcico  | 0,00                | 0,10              | 0,10             | 0,00               | 0,00             |
| <b>Total</b>       | 100,00              | 100,00            | 100,00           | 100,00             | 100,00           |
| Nutrientes         | Composição estimada |                   |                  |                    |                  |
|                    |                     |                   |                  |                    |                  |
| PB (% MS)          | 12,20               | 12,21             | 12,22            | 12,20              | 12,21            |
| EM (Mcal/kg MS)    | 2,53                | 2,52              | 2,52             | 2,53               | 2,52             |
| EE (%)             | 2,90                | 2,58              | 2,31             | 2,09               | 1,81             |
| FDN (%)            | 40,83               | 40,07             | 38,11            | 35,01              | 33,08            |
| FDA (%)            | 25,41               | 25,56             | 24,71            | 22,89              | 22,06            |
| HEM (%)            | 15,42               | 14,51             | 13,41            | 12,12              | 11,02            |
| Ca (%)             | 0,56                | 0,56              | 0,55             | 0,57               | 0,55             |
| P (%)              | 0,32                | 0,32              | 0,35             | 0,34               | 0,34             |

<sup>1</sup>Tratamento controle sem adição de glicerina; <sup>2</sup>Adição de 7,5% de glicerina na MS da dieta; <sup>3</sup>Adição de 15% de glicerina na MS da dieta; <sup>4</sup>Adição de 22,5% de glicerina na MS da dieta; <sup>5</sup>Adição de 30,0% de glicerina na MS da dieta.

As amostras foram colhidas no 15º dia de cada período experimental, uma hora antes da alimentação da manhã (-1), no momento da alimentação (0), 1, 2, 4, 6 e 8 horas após a alimentação.

Foram colhidos manualmente 500 mL de conteúdo ruminal, os quais foram filtrados em tecido de náilon (100µm) para a separação das fases sólida e líquida.

Imediatamente após a separação, uma alíquota de 100 mL da fração líquida foi colocada em béquer plástico e o pH foi medido em pHmetro digital de bancada. Dessa alíquota, 2 mL foram reservados em tubos de ensaio para a determinação do nitrogênio amoniacal e 5 mL foram reservados em potes com tampa, devidamente identificados, e congelados a -20°C para a posterior determinação das concentrações de ácidos graxos de cadeia curta.

Para a determinação das concentrações ruminais de nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) foi utilizada a alíquota da fase líquida do conteúdo ruminal previamente reservada, a qual foi destilada em aparelho tipo micro-kjeldhal utilizando-se de 5,0 mL de KOH 2N, regulado para destilar a um fluxo de 2,0 mL/min. O destilado foi recebido em 10,0 mL de solução de ácido bórico 2% até completar o volume de 50 mL e então foi titulado com HCl 0,005 N.

Oportunamente, as amostras reservadas para a determinação das concentrações de AGCC foram descongeladas e adotou-se metodologia descrita por ARAUJO (2010), para a determinação das concentrações dos ácidos propiônico, acético, isobutírico, butírico, valérico e isovalérico.

Para a preparação das amostras, 1,6 mL de fluido ruminal foi centrifugado (Sorvall Superspeed RC2-B, Newton, CT, EUA; 15.000 g; 15 minutos; 4°C) com 0,4 mL de solução 3:1 de ácido metafosfórico 25% (Vetec Química Fina Ltda) com ácido fórmico 98-100% (Merck KGaA) + 0,2 mL de solução de ácido 2-etil-butírico 100 mM (padrão interno; PM = 116,16; CAS 88-09-5; (Sigma Chemie GmbH). Após a centrifugação, aproximadamente 1,2 mL foi transferido para o *vial* cromatográfico.

As concentrações dos AGCC foram determinadas injetando-se 1 µL de amostra em cromatógrafo gasoso (CG HP 7890A; Injetor HP 7683B, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EUA) equipado com coluna capilar HP-FFAP (19091F-112; 25 m; 0,320 mm; 0,50 µm; J&W Agilent Technologies Inc.; Palo Alto, CA, EUA). Para a injeção automática foi usada razão de divisão de 20:1 com fluxo de H<sub>2</sub> de 31,35 mL/min (9,20 *psi*). *Liner* de vidro contendo lã-de-vidro foi utilizado no injetor, para evitar a contaminação da coluna. O injetor e o detector por ionização de chama foram mantidos a 260°C. A rampa de aquecimento do forno foi: 80°C (1 min), 120°C (20°C/min; 3 min),

205°C (10°C/min; 2 min), sendo 16,5 min o tempo total da corrida. O hidrogênio a 1,35 mL/min foi usado como gás de arraste. No detector, os fluxos de hidrogênio, ar sintético e nitrogênio (*make up*) foram mantidos a 40, 400 e 40 mL/min, respectivamente. A curva de calibração externa foi feita com padrões cromatográficos (Chem Service, West Chester, PA, EUA) de ácido acético (99,5%; CAS 64-19-97), propiônico (99%; CAS 79-09-4), isobutírico (99%; CAS 79-31-2), butírico (98,7%; CAS 107-92-6), isovalérico (99%; CAS 503-74-2) e valérico (99%; CAS 109-52-4). A solução-padrão de maior concentração (denominada “super-alta”) continha 200 mM de ácido acético, 54 mM de ácido propiônico, 6 mM de ácido isobutírico, 45 mM de ácido butírico, 9 mM de ácido isovalérico e 9 mM de ácido valérico. As soluções-padrão subsequentes foram obtidas diluindo-se a solução “super alta” por 1/2 (“alta”), 1/4 (“média”), 1/8 (“baixa”) e 1/16 (“super-baixa”). Em seguida, para a preparação dos *vials* com soluções-padrão, foram adicionadas as mesmas quantidades de solução 3:1 ác. metafosfórico:ác. fórmico + padrão interno usadas no preparo das amostras.

A metodologia de determinação “in vitro” da produção dos gases CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> adotada neste estudo foi adaptada de GASTALDI (2003), a qual consistiu em três fases:

- 1- Preparo das amostras: Cerca de 4 kg de conteúdo ruminal foram colhidos manualmente e filtrados em filtro de náilon (100µm). Em seguida 125 mL do filtrado foi acondicionado em *erlenmeyers* com capacidade para 250 mL, onde previamente foram adicionados cerca de 1,7 g de matéria seca dos ingredientes estudados (silagem de milho, milho, farelo de girassol, casca de soja e glicerina), e da rações totais, de forma a manter a relação de 1g de amostra: 8 mL de líquido.
- 2- Produção e armazenamento dos gases: Os *erlenmeyers* foram mantidos por 12 horas em banho-maria à temperatura de 39°C e fechados com rolhas acopladas por mangueira de equipo a um sistema de gasômetros confeccionados com canos de PVC e garrafas PET, com capacidade para 500 mL. Os recipientes eram purgados com CO<sub>2</sub> no momento do fechamento, para evitar a

contaminação com ar atmosférico e consequentemente gerar confundimento na obtenção da concentração dos gases.

- 3- Análise quantitativa, colheita de gás e análise qualitativa dos gases produzidos: O volume de gás produzido foi aferido adotando-se garrafas PET graduadas. Após a verificação do volume produzido, amostras do gás foram retiradas do *erlenmeyer* utilizando uma seringa plástica, com capacidade para 1 mL e, imediatamente, uma alíquota de 0,5 mL foi injetada em cromatógrafo de fase gasosa para qualificação dos gases.

As colheitas do conteúdo ruminal foram realizadas sempre ao final do dia, antes da segunda refeição do dia, para que a aferição do volume de gás produzido fosse realizada antes da primeira alimentação do dia seguinte.

Foi utilizada a metodologia adaptada de MARTIN et al. (1994), em que se colheu cerca de 3 kg do conteúdo ruminal entre os pilares coronários cranial e ventral do rúmen 2, 4 e 12 horas após a alimentação matinal. Para reduzir possíveis prejuízos à função ruminal, uma única amostra de conteúdo ruminal foi colhida por dia (entre os dias 22 e 24 de cada período experimental). O conteúdo ruminal foi filtrado em tecido de náilon (100µm) para separar as fases sólida e líquida. Foram pesados 200 g da parte sólida do conteúdo, sendo que 30 g foram utilizados para a determinação da matéria seca da parte sólida (para expressar os valores encontrados para bactérias sólido-aderidas na matéria seca), e 170 g foram utilizados para a extração das bactérias do sólido.

A fase sólida do conteúdo ruminal foi inicialmente misturada à solução salina (0,63%  $K_2HPO_4$ , 0,5%  $KH_2PO_4$ , 0,065%  $NaCl.6H_2O$ , 0,09%  $MgSO_4.7H_2O$ , 0,5% cloridrato de cisteína), previamente aquecida a 39°C (1g de sólido:4mL de solução). Para a remoção das bactérias não aderidas ao sólido, procedeu-se a filtração dessa mistura (náilon 100µm) e o filtrado foi centrifugado (1000 x g por 10 min.) em temperatura ambiente. Os péletes obtidos foram adicionados ao conteúdo retido no filtro. O combinado sólido foi adicionado de solução salina a 4°C (1g de sólido:4mL de

solução) e homogeneizado (200 rpm por 5 min.) em aparelho homogeneizador Stomacher 400 (Seward and Co., London). O combinado sólido + solução rica em bactérias foi filtrado e o sólido foi descartado. O material não-bactéria foi descartado após centrifugação (1000 x g por 10 min. a 4°C) e o sobrenadante centrifugado novamente (27000 x g por 30 min. a 4°C). O sedimento resultante dessa última centrifugação correspondeu à população de bactérias sólido-aderidas (BSA).

O conteúdo de BSA foi transferido para potes com tampa, identificados e levados à estufa de circulação forçada de ar a 55°C, onde foram pré-secos por 72 horas. Posteriormente, os potes foram pesados e reservados para posteriores análises de MS, MM e PB (SILVA & QUEIROZ, 2002).

Quanto à fase líquida, uma alíquota de 700 mL de líquido, dos 3 kg de conteúdo colhido, foi reservada em garrafas PET acondicionadas em freezer a -20°C até o momento do processamento. Os 700 mL de líquido ruminal foram diluídos com quantidade igual de solução salina, pré-aquecida a 39°C, e a mistura foi incubada em banho maria, sob a mesma temperatura, por cerca de 30 minutos. Aos 25 minutos de incubação, foram adicionados 1g/L de glicose, para separar os protozoários do restante da mistura. Após essa etapa realizou-se centrifugação (1000 x g por 10 minutos) de 400 mL do fluido clarificado, quando foi separado o pélete de protozoários líquido-associados (PLA), que foi lavado com solução salina, a 39°C, e filtrado em tecido de náilon de 20 µm.

As bactérias líquido-associadas (BLA) foram obtidas pela centrifugação (15.000 x g por 20 minutos a 4°C) do fluido sobrenadante livre de protozoário.

Os péletes de PLA e BLA foram transferidos para potes plásticos e foram pré-secos por 72 horas em estufa de circulação forçada de ar à 55°C. Após esse processo, foram analisados quanto aos teores de MS, MM e nitrogênio (SILVA & QUEIROZ, 2002).

As variáveis N-NH<sub>3</sub>, pH, AGCC e massa microbiana foram analisadas como medidas repetidas no tempo, utilizando-se o programa SAS, versão 9.1. O modelo incluiu efeitos fixos de tratamento, tempo e suas interações e os efeitos aleatórios de animal e períodos. Diversas estruturas de covariância foram testadas, sendo que no

Quadro 1 estão demonstradas as utilizadas em cada variável. Os graus de liberdade e testes foram ajustados usando a opção KR. Quando a interação tratamento × tempo foi significativa, foram testados os efeitos linear e quadrático da inclusão de glicerina e o contraste tratamento controle × tratamentos com glicerina. Os dados de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> foram analisados como quadrado latino 5 × 5 e também foram testados os efeitos linear e quadrático da inclusão de glicerina e o contraste tratamento controle × tratamentos com glicerina. A significância foi declarada  $P \leq 0,05$ .

Quadro 1. Estruturas de covariância utilizadas em cada variável

| Variável                | Estrutura |
|-------------------------|-----------|
| pH                      | UN        |
| N-NH <sub>3</sub>       | ANTE(1)   |
| Ác. Acético             | ANTE(1)   |
| Ác. Propiônico          | UN        |
| Ác. Isobutírico         | ANTE(1)   |
| Ác. Butírico            | ANTE(1)   |
| Ác. Isovalérico         | UN        |
| Ác. Valérico            | AR(1)     |
| AGCC totais             | AR(1)     |
| <i>BSA</i> <sup>1</sup> |           |
| mg/kg MS                | VC        |
| % MO                    | AR(1)     |
| mg MO                   | VC        |
| mgN/kg                  | VC        |
| %N MO                   | UN        |
| <i>BLA</i> <sup>2</sup> |           |
| Mg MS/L                 | TOEP      |
| % MO                    | AR(1)     |
| mg MO                   | UM        |
| mgN/L                   | UM        |
| %N MO                   | AR(1)     |
| <i>PLA</i> <sup>3</sup> |           |
| Mg MS/L                 | AR(1)     |
| % MO                    | UM        |
| mg MO                   | AR(1)     |
| mgN/L                   | UM        |
| %N MO                   | AR(1)     |

<sup>1</sup>Bactérias sólido-aderidas. <sup>2</sup>Bactérias líquido-associadas. <sup>3</sup>Protozoários líquido-associados

## Resultados e Discussão

Não houve efeito ( $P>0,05$ ) da adição de glicerina bruta sobre os valores de pH e concentração de  $N-NH_3$  ruminal dos animais (Figura 1A e Figura 1B, respectivamente), havendo apenas efeito do horário de colheita de líquido ruminal tanto para pH ( $P<0,01$ ) quanto para as concentrações de  $N-NH_3$  ( $P<0,01$ ). O valor de pH observado entre duas e quatro horas após a alimentação (horário com menores valores de pH), principalmente no tratamento controle, foi próximo à 5,7, tendendo a ser menor em comparação aos demais tratamentos ( $P=0,0523$ ). Valores baixos de pH ruminal podem causar prejuízo a algumas espécies de bactérias ruminais, principalmente as fibrolíticas (GRANT & MERTENS, 1992).

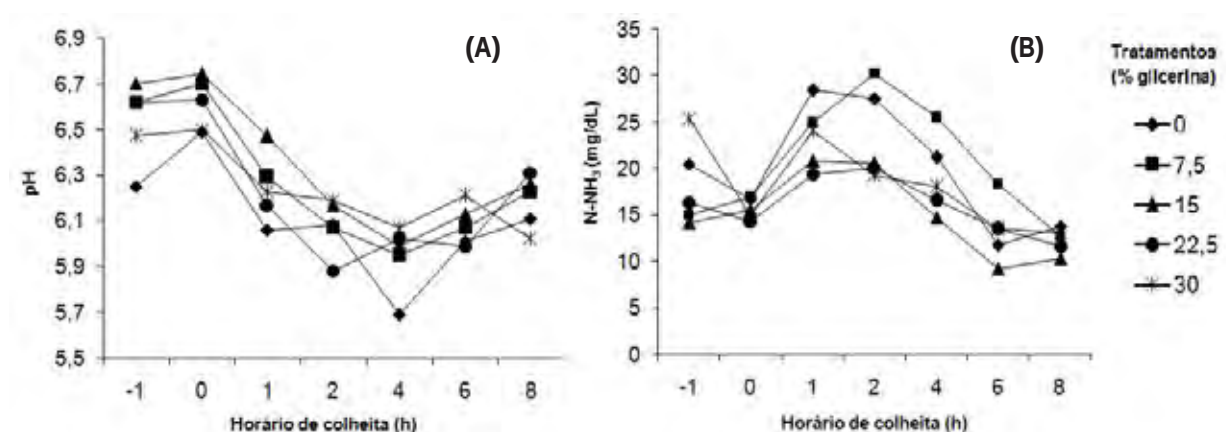


Figura 1. Valores de pH ruminal (A) e de  $N-NH_3$  (B) de bovinos da raça Nelore alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta.

EL-NOR et al. (2010) estudando a fermentação e o comportamento de bactérias do rúmen, adicionaram até 10,8% de glicerina em dietas para bovinos da raça Holandesa e em fermentadores contínuos. Não foram observadas modificações ( $P>0,5$ ) nos valores de pH e  $N-NH_3$ , concordando com os resultados observados no presente estudo.

MACH et al. (2009) forneceram 0, 4, 8 ou 12% de glicerina para bovinos de corte mestiços e observaram efeito dessa adição sobre o valor de pH, em que o tratamento com 8% de glicerina apresentou o menor valor, quando comparado aos demais tratamentos. Segundo os autores, esse fato é resultante do maior consumo de concentrado pelos animais que consumiram 8% de glicerina, podendo, então, a queda no valor de pH não estar relacionada à inclusão de glicerina.

WANG et al. (2009), ao adicionarem 0, 1, 2 ou 3% de glicerina (99% de pureza) em dietas (V:C de 60:40) para bovinos da raça Simental Chinês, obtiveram resultado divergente ao obtido neste estudo, uma vez que foi evidenciado efeito linear decrescente ( $P=0,05$ ) para os valores de pH. Em relação ao  $N-NH_3$ , esses autores também observaram diminuição linear ( $P<0,05$ ) nos valores desse parâmetro, quando aumentaram as inclusões de glicerina.

No presente estudo, apesar de não ter sido observado efeito da inclusão de glicerina, todos os tratamentos proporcionaram valores de  $N-NH_3$  acima do sugerido como suficiente para maximização da digestão ruminal da matéria seca, que de acordo com LENG (1990) é de 10 mg/dL.

Houve efeito dos tratamentos ( $P<0,01$ ) e do tempo de colheita ( $P<0,01$ ) de líquido ruminal quanto à concentração de ácido acético ruminal (Figura 2A), em que quanto maior a concentração de glicerina incluída, menor o valor observado. Os menores valores foram observados entre 1 e 4 horas após a alimentação matinal. Esses valores estão em desacordo com os trabalhos de WANG et al. (2009) e MACH et al. (2009), nos quais a adição de até 3, ou até 12%, respectivamente, não proporcionaram alteração na concentração desse ácido graxo de cadeia curta. Já KRUEGER et al. (2010), avaliando a inclusão de até 40% de glicerina sobre a produção “in vitro” de AGCC, observaram efeito linear decrescente sobre os valores de ácido acético, similarmente ao ocorrido neste ensaio.

Foi observado efeito dos tratamentos e do tempo de colheita ( $P<0,01$ ) sobre os valores de ácido propiônico e, quanto maior a concentração de glicerina, maiores os valores encontrados, principalmente para os tratamentos G22,5 e G30 (Figura 2B). Os maiores valores foram observados 4 horas após a alimentação, coincidindo com a

afirmação de DONKIN (2008), o qual relatou que 50 a 70% do glicerol ingerido desaparecem do rúmen em até 4h, levando a aumento na produção de propionato.

Em outros trabalhos também foram observados aumentos de propionato quando a glicerina bruta ou pura foi incluída em dietas para ruminantes (WANG et al., 2009, MACH et al., 2009, VAN CLEEF et al., 2011).

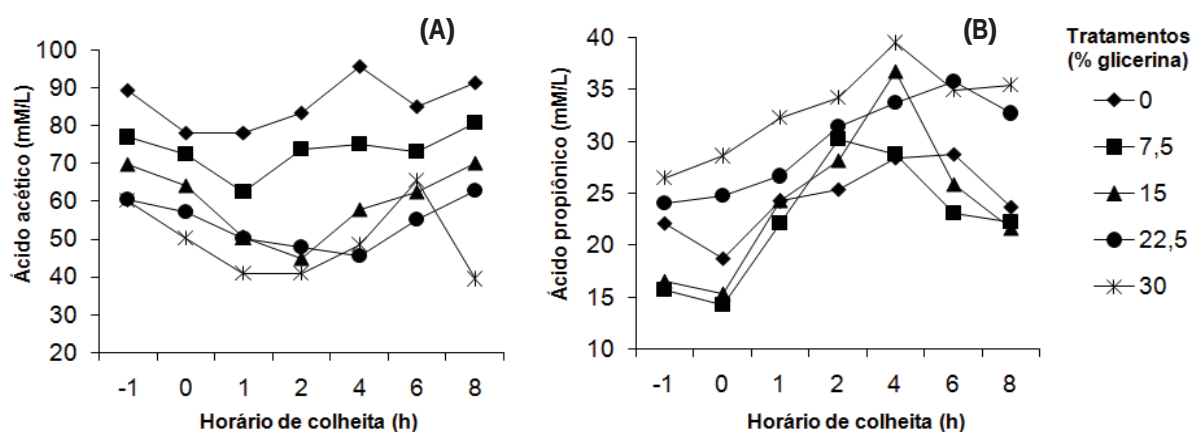


Figura 2. Concentração ruminal de ácido acético (mM/L) (A) e de ácido propiônico (B) de bovinos da raça Nelore alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta.

Não foram observados efeitos, nem de tratamento, tampouco de tempo de colheita para o ácido isobutírico (Figura 3A). Esses resultados diferem dos encontrados por VAN CLEEF et al., (2011), os quais observaram elevação na concentração desse ácido graxo de cadeia curta ( $P < 0,01$ ) quando adicionaram 15% de glicerina bruta em sistema “in vitro”.

Quanto ao ácido butírico, houve efeito ( $P < 0,01$ ) dos tratamentos, do tempo de colheita (Figura 3B) e da interação de tratamento e tempo (Tabela 3), em que no tempo 1 hora após a alimentação houve aumento linear na concentração de ácido butírico, conforme as doses de glicerina bruta foram aumentadas. Já no tempo 2 horas após a alimentação foi observado efeito quadrático da inclusão de glicerina sobre a concentração desse AGCC, sendo que todos os tratamentos com glicerina

apresentaram valores superiores ( $P<0,05$ ) em comparação ao tratamento controle. Os resultados obtidos neste estudo concordam com os encontrados em outros estudos, os quais objetivaram a inclusão de glicerina em dietas para ruminantes (CZERKAWSKI & BRECKENRIDGE, 1972; REMOND et al., 1993; WANG et al., 2009).

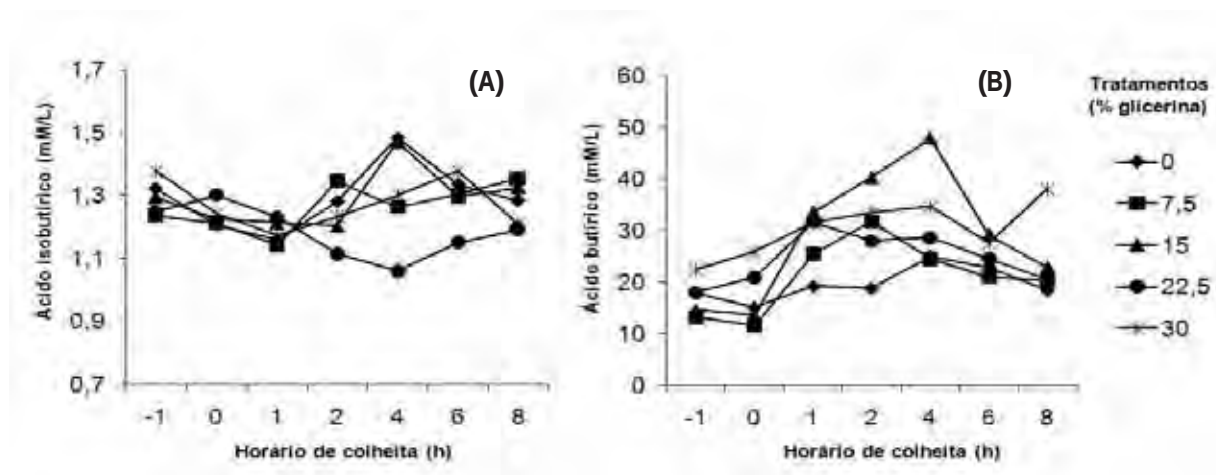


Figura 3. Concentração ruminal de ácido isobutírico (mM/L) (A) e de ácido butírico (B) de bovinos da raça Nelore alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta.

Tabela 3. Desdobramento da interação “tempo × tratamento” para ácido butírico

| Tempo <sup>5</sup> | Tratamento (% de glicerina) |       |       |       |       | Contrastes     |                |                      | EPM <sup>4</sup> |
|--------------------|-----------------------------|-------|-------|-------|-------|----------------|----------------|----------------------|------------------|
|                    | G0                          | G7,5  | G15   | G22,5 | G30   | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0 × GLI <sup>3</sup> |                  |
| -1                 | 17,76                       | 13,17 | 14,57 | 17,95 | 22,31 | NS             | NS             | NS                   | 7,07             |
| 0                  | 15,05                       | 11,44 | 13,69 | 20,85 | 25,82 | NS             | NS             | NS                   | 9,15             |
| 1                  | 19,15                       | 25,33 | 33,45 | 31,66 | 31,50 | *              | NS             | NS                   | 7,96             |
| 2                  | 18,74                       | 31,76 | 40,32 | 27,96 | 33,41 | NS             | *              | *                    | 9,30             |
| 4                  | 24,88                       | 24,39 | 47,91 | 28,55 | 34,67 | NS             | NS             | NS                   | 15,43            |
| 6                  | 22,82                       | 20,96 | 29,12 | 24,50 | 27,50 | NS             | NS             | NS                   | 6,74             |
| 8                  | 18,36                       | 20,18 | 22,86 | 20,44 | 37,97 | NS             | NS             | NS                   | 5,81             |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle × tratamentos com glicerina. <sup>4</sup>Erro padrão da média. <sup>5</sup>Em relação à alimentação matinal. \* $P<0,05$ ; \*\* $P<0,01$ ; NS = Não significativo.

Não houve efeito da inclusão de glicerina sobre a concentração de ácido isovalérico no rúmen dos animais (Figura 4A), sendo evidenciada diferença ( $P<0,01$ ) apenas quanto aos tempos de colheita das mostras de conteúdo ruminal.

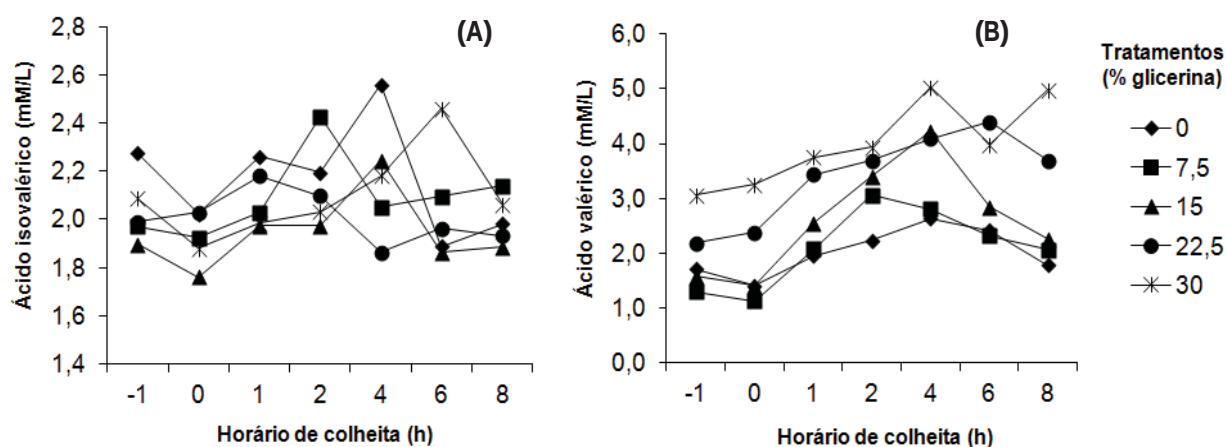


Figura 4. Concentração ruminal de ácido isovalérico (mM/L) (A) e de ácido valérico (B) de bovinos da raça Nelore alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta.

Com relação ao ácido valérico, foram observados efeitos do tratamento e do tempo de colheita ( $P<0,01$ ), bem como da interação desses dois fatores (Figura 4B). Os maiores valores, também foram observados com aproximadamente 4 horas após a alimentação.

Analisando-se os tempos separadamente, verificou-se que nos tempos 1, 2, 4, 6 e 8 horas após a alimentação, quanto maior a concentração de glicerina adicionada, maior a concentração de ácido valérico (Tabela 4) e nos tempos 1 e 2 horas após a alimentação, os valores de ácido valérico encontrado no tratamento controle foram inferiores aos obtidos com os tratamentos com glicerina bruta, independente da dose adicionada.

Tabela 4. Desdobramento da interação “tempo × tratamento” para ácido valérico

| Tempo <sup>5</sup> | Tratamento (% de glicerina) |      |      |       |      | Contrastes     |                |                      | EPM <sup>4</sup> |
|--------------------|-----------------------------|------|------|-------|------|----------------|----------------|----------------------|------------------|
|                    | G0                          | G7,5 | G15  | G22,5 | G30  | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0 × GLI <sup>3</sup> |                  |
| -1                 | 1,71                        | 1,30 | 1,58 | 2,19  | 3,05 | NS             | NS             | NS                   | 0,89             |
| 0                  | 1,41                        | 1,13 | 1,41 | 2,37  | 3,25 | NS             | NS             | NS                   | 0,90             |
| 1                  | 1,96                        | 2,08 | 2,55 | 3,44  | 3,75 | **             | NS             | *                    | 0,62             |
| 2                  | 2,24                        | 3,06 | 3,41 | 3,69  | 3,94 | **             | NS             | **                   | 0,58             |
| 4                  | 2,64                        | 2,80 | 4,22 | 4,09  | 5,03 | *              | NS             | NS                   | 1,07             |
| 6                  | 2,42                        | 2,32 | 2,85 | 4,40  | 3,99 | *              | NS             | NS                   | 1,06             |
| 8                  | 1,78                        | 2,07 | 2,25 | 3,70  | 4,98 | *              | NS             | NS                   | 0,95             |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle × tratamentos com glicerina. <sup>4</sup>Erro padrão da média. <sup>5</sup>Em relação à alimentação matinal. \*P<0,05; \*\*P<0,01; NS = Não significativo.

A diminuição na produção de acetato e o aumento da produção de propionato, proporcionou diminuição na relação acetato:propionato ( $P<0,05$ ) conforme se adicionou glicerina (Figuras 5A). Resultados semelhantes foram obtidos por WANG et al. (2009), os quais observaram queda linear nessa relação, qdo incluíram até 3% de glicerina para bovinos da raça Simental Chinês. MACH et al. (2009) não observaram modificações na relação acetato:propionato com adição de até 12% de glicerina bruta, uma vez que não observaram efeito sobre as concentrações de ácido acético, tampouco de propiônico.

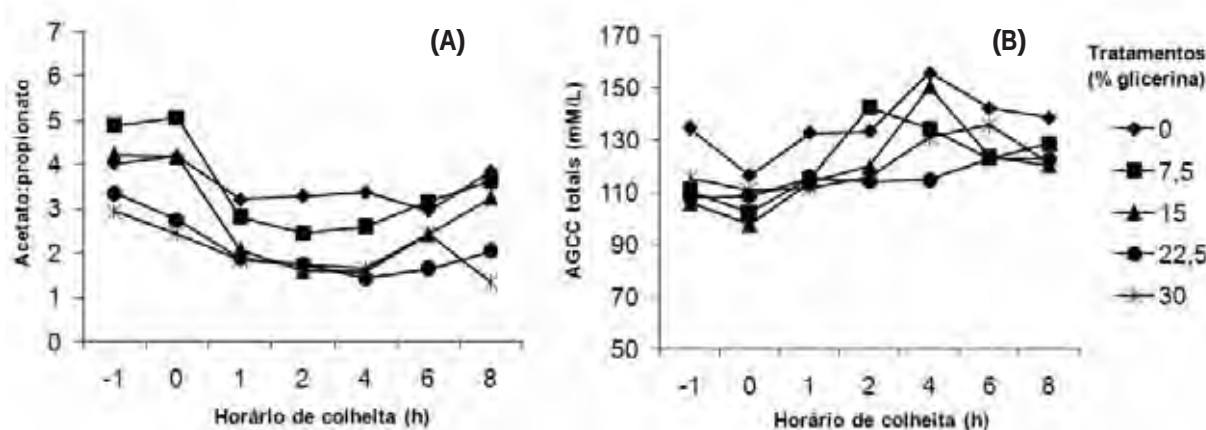


Figura 5. Relação acetato:propionato (A) e AGCC totais (B) de bovinos da raça Nelore alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta.

Apesar da superioridade nas concentrações para os tratamentos com inclusão de glicerina bruta, na maioria dos AGCC estudados, a queda na concentração de ácido acético causada pela inclusão de glicerina promoveu valores de AGCC totais semelhantes para os tratamentos em questão (Figura 5B), em que os tratamentos controle e com 15% de glicerina foram superiores ( $P < 0,05$ ) aos demais nos horários -1 e 4 horas após a alimentação (Tabela 6).

Tabela 6. Desdobramento da interação “tempo × tratamento” para ácidos graxos de cadeia curta totais

| Tempo* | Tratamento (% de glicerina) |        |        |        |        | Contrastes     |                |                      | EPM <sup>4</sup> |
|--------|-----------------------------|--------|--------|--------|--------|----------------|----------------|----------------------|------------------|
|        | G0                          | G7,5   | G15    | G22,5  | G30    | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0 × GLI <sup>3</sup> |                  |
| -1     | 134,38                      | 110,23 | 105,77 | 107,74 | 115,47 | NS             | NS             | *                    | 21,8             |
| 0      | 116,44                      | 102,24 | 97,56  | 108,41 | 110,79 | NS             | NS             | NS                   | 23,2             |
| 1      | 132,58                      | 115,13 | 113,75 | 115,35 | 111,50 | NS             | NS             | NS                   | 22,8             |
| 2      | 133,09                      | 142,37 | 119,74 | 114,11 | 115,76 | NS             | NS             | NS                   | 22,5             |
| 4      | 155,62                      | 134,20 | 150,27 | 114,66 | 131,07 | *              | NS             | NS                   | 21,3             |
| 6      | 142,26                      | 122,75 | 123,50 | 122,83 | 135,71 | NS             | NS             | NS                   | 25,9             |
| 8      | 138,39                      | 128,73 | 120,04 | 122,69 | 120,98 | NS             | NS             | NS                   | 24,2             |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle × tratamentos com glicerina. <sup>4</sup>Erro padrão da média. \*Em relação à alimentação matinal.

Os resultados encontrados nesse estudo são divergentes aos encontrados em outros estudos. WANG et al. (2009), observaram efeito linear crescente da inclusão de glicerina sobre a concentração de AGCC totais, quando adicionaram até 3% de glicerina bruta, efeito semelhante encontrado por DEFRAIN et al. (2004) e por TRABUE et al. (2007). MACH et al. (2009), não detectaram efeito da inclusão de até 12% de glicerina em dietas para bovinos de corte sobre a concentração de AGCC totais, o mesmo ocorrendo com RAMOS & KERLEY (2011), os quais trabalharam com fermentadores contínuos e incluindo até 20% de glicerina e não observaram efeito de tratamento para tal variável.

A inclusão de glicerina bruta, independentemente da concentração adicionada, proporcionou elevação na produção “in vitro” de metano e CO<sub>2</sub>, durante 12 horas de incubação, para todos os ingredientes testados, porém apresentou redução de ambos os gases, quando a dieta total foi incubada (Tabela 7).

Tabela 7. Produção de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> resultante da incubação “in vitro” dos ingredientes e das dietas por 12 horas

| Item                         | Tratamento (% glicerina) |       |       |       |       | Contrastes     |                |                      | EPM <sup>5</sup> |
|------------------------------|--------------------------|-------|-------|-------|-------|----------------|----------------|----------------------|------------------|
|                              | G0                       | G7,5  | G15   | G22,5 | G30   | L <sup>2</sup> | Q <sup>3</sup> | 0 × GLI <sup>4</sup> |                  |
| Silagem de milho             |                          |       |       |       |       |                |                |                      |                  |
| CH <sub>4</sub> <sup>1</sup> | 8,46                     | 9,27  | 10,89 | 8,33  | 11,45 | **             | NS             | **                   | 0,58             |
| CO <sub>2</sub> <sup>1</sup> | 42,75                    | 46,75 | 44,22 | 40,33 | 53,93 | **             | **             | **                   | 1,90             |
| Milho grão                   |                          |       |       |       |       |                |                |                      |                  |
| CH <sub>4</sub>              | 5,42                     | 10,53 | 10,06 | 6,55  | 9,95  | **             | **             | **                   | 0,73             |
| CO <sub>2</sub>              | 49,40                    | 60,42 | 56,13 | 46,57 | 48,41 | **             | **             | **                   | 1,95             |
| Casca de soja                |                          |       |       |       |       |                |                |                      |                  |
| CH <sub>4</sub>              | 3,32                     | 4,47  | 6,30  | 5,88  | 5,05  | **             | **             | **                   | 0,31             |
| CO <sub>2</sub>              | 36,46                    | 52,23 | 46,28 | 54,56 | 43,03 | **             | **             | **                   | 2,53             |
| Farelo de girassol           |                          |       |       |       |       |                |                |                      |                  |
| CH <sub>4</sub>              | 6,07                     | 6,77  | 8,70  | 12,14 | 6,31  | **             | **             | **                   | 0,97             |
| CO <sub>2</sub>              | 23,39                    | 32,40 | 23,61 | 48,55 | 34,55 | **             | **             | **                   | 1,81             |
| Glicerina bruta              |                          |       |       |       |       |                |                |                      |                  |
| CH <sub>4</sub>              | 7,01                     | 8,26  | 11,43 | 11,94 | 16,33 | **             | *              | **                   | 0,93             |
| CO <sub>2</sub>              | 37,45                    | 34,87 | 60,80 | 44,71 | 58,57 | **             | *              | **                   | 2,03             |
| Dieta total                  |                          |       |       |       |       |                |                |                      |                  |
| CH <sub>4</sub>              | 12,04                    | 10,97 | 7,65  | 13,18 | 6,43  | **             | NS             | **                   | 0,86             |
| CO <sub>2</sub>              | 55,82                    | 42,92 | 55,35 | 57,80 | 50,56 | *              | NS             | **                   | 1,36             |

<sup>1</sup>ml de gás/g de amostra. NS=Não significativo; <sup>2</sup>Linear; <sup>3</sup>Quadrático; <sup>4</sup>Tratamento controle × tratamentos com glicerina; <sup>5</sup>Erro padrão da média; \*<0,05; \*\*<0,01.

AVILA et al. (2011) avaliando a produção “in vitro” de dietas contendo até 21% de glicerina bruta em substituição à cevada, não observaram efeito sobre a produção desse gás. LEE et al. (2011) incubando também “in vitro” alguns ingredientes com e sem glicerina por até 48 horas, não observaram modificação quanto à produção de metano dos tratamentos. CZERKAWSKI & BRECKENRIDGE (1972) ao incubarem glicerol “in vitro”, observaram aumento na produção de metano no sistema, efeito semelhante ao observado no presente estudo.

Era esperado que a inclusão de glicerina bruta às dietas proporcionasse diminuição na produção de metano devido, principalmente, à menor relação entre acetato e propionato nos tratamentos com maior concentração de glicerina. De acordo com STRADIOTTI JÚNIOR et al. (2004), no ecossistema ruminal, há relação inversa entre a produção de metano e de ácido propiônico. O mecanismo pelo qual se justifica

essa relação inversa consiste no direcionamento dos hidrogênios e carbonos que estariam disponíveis para metanogênese, excedentes na produção de acetato, para a produção de propionato.

A inclusão de glicerina bruta promoveu diminuição ( $P<0,01$ ) na quantidade de bactérias sólido-aderidas (BSA) expressa em mg/kg de MS (Figura 6A), sendo mais evidenciada 4 horas após a alimentação matinal (Tabela 8).

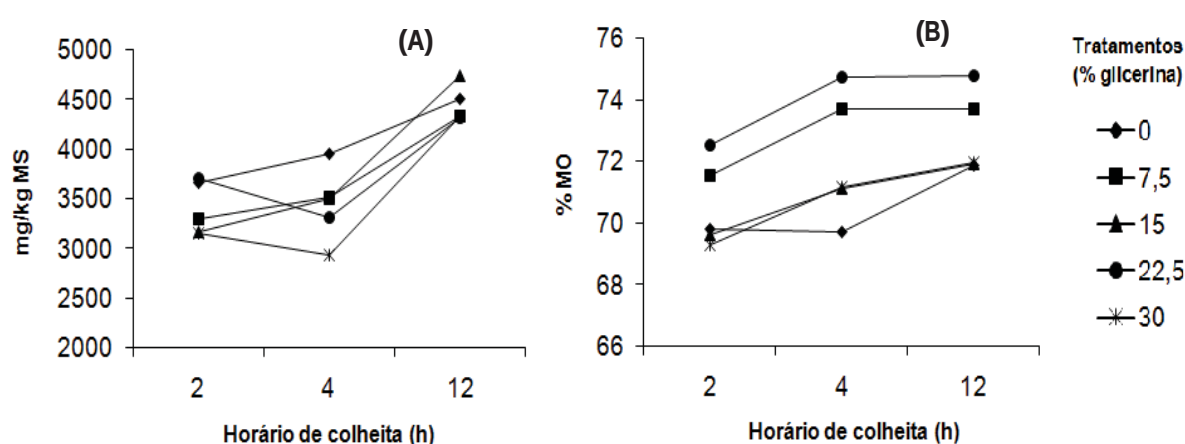


Figura 6. Quantificação das BSA (mg/kg MS) (A) e %MO (B) do conteúdo ruminal de bovinos da raça Nelore alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta.

Tabela 8. Desdobramento da interação “tempo × tratamento” para a quantidade (mg/kg MS) de BSA

| Tempo* | Tratamento (% de glicerina) |        |        |        |        | Contrastes     |                |                      | EPM <sup>4</sup> |
|--------|-----------------------------|--------|--------|--------|--------|----------------|----------------|----------------------|------------------|
|        | G0                          | G7,5   | G15    | G22,5  | G30    | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0 × GLI <sup>3</sup> |                  |
| 2      | 3671,6                      | 3308,2 | 3177,1 | 3706,2 | 3152,1 | NS             | *              | NS                   | 419,34           |
| 4      | 3958,6                      | 3522,7 | 3505,5 | 3313,6 | 2930,7 | **             | NS             | **                   | 245,32           |
| 12     | 4509,3                      | 4335,9 | 4746,8 | 4317,5 | 4330,7 | NS             | NS             | NS                   | 231,94           |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle × tratamentos com glicerina. <sup>4</sup>Erro padrão da média. \*Em horas após a alimentação matinal. \* $P<0,05$ , \*\* $P<0,01$ , NS=Não significativo.

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 e degradabilidade da fibra, fato esse comprovado na presente tese (Capítulo 4). 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 encapsulamento das partículas fibrosas evitando a aderência das bactérias e a competição ou preferência por outro substrato, no caso a glicerina.

FÁVARO (2010) incluiu 0, 5, 10, 15 ou 20% de glicerina em dietas para bovinos mestiços e avaliou a produção de BSA utilizando a mesma metodologia aplicada no presente estudo. Essa autora, diferentemente do observado no presente estudo, não observou efeito ( $P>0,05$ ) dos tratamentos sobre a produção de MS, MO e N (mg/kg) de bactérias de fase sólida.

As variações observadas entre os experimentos que avaliam 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.

Não foram observadas diferenças entre as porcentagens de MO de BSA nos tratamentos, sendo observada diferença apenas entre os tempos de colheita de amostras de conteúdo ruminal (Figura 6B). Os valores observados neste estudo são superiores aos obtidos por FÁVARO (2010) a qual obteve valor médio de 63%, e inferiores aos obtidos por EZEQUIEL et al. (2002), os quais obtiveram valor médio de 81%.

De acordo com MARTIN et al. (1994) a matéria mineral contida nas frações isoladas de microorganismo se deve, na sua maioria, à solução salina utilizada e ao número de lavagens em solução salina que a amostra foi submetida.

Quanto à produção de BSA, em mg MO/kg, houve efeito dos tratamentos, do tempo de colheita (Figura 7A) e da interação (Tabela 9) desses dois fatores com a inclusão de glicerina, em que nos tempos 2 e 4 horas após a alimentação, a inclusão de glicerina proporcionou aumento na produção desses microrganismos.

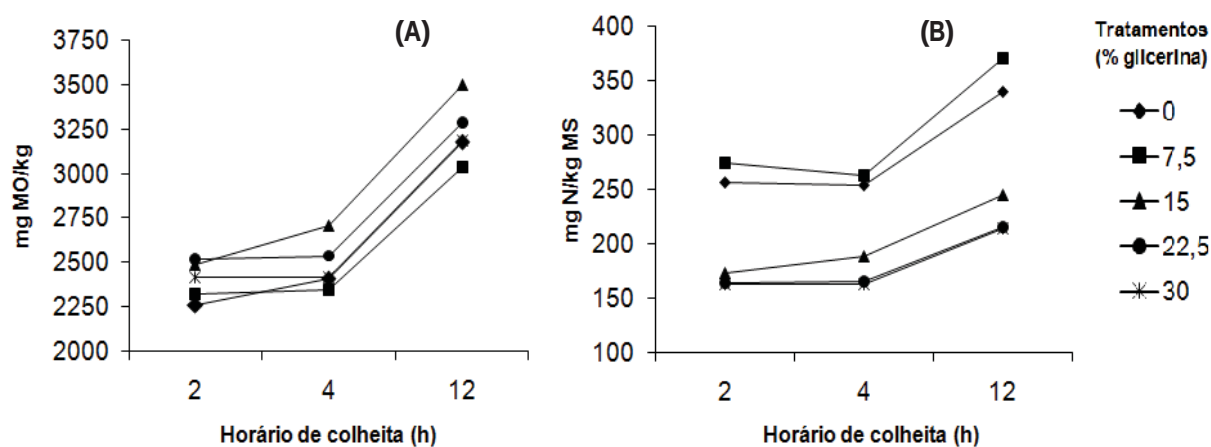


Figura 7. Quantificação das BSA (mg MO/kg) (A) e quantidade de N (B) do conteúdo ruminal de bovinos da raça Nelore alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta.

Tabela 9. Desdobramento da interação “tempo × tratamento” para a quantidade (mg MO/kg) de BSA

| Tempo* | Tratamento (% de glicerina) |        |        |        |        | Contrastes     |                |                      | EPM <sup>4</sup> |
|--------|-----------------------------|--------|--------|--------|--------|----------------|----------------|----------------------|------------------|
|        | G0                          | G7,5   | G15    | G22,5  | G30    | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0 × GLI <sup>3</sup> |                  |
| 2      | 2259,5                      | 2318,7 | 2489,2 | 2515,0 | 2415,7 | NS             | *              | NS                   | 285,62           |
| 4      | 2407,5                      | 2344,8 | 2705,2 | 2537,2 | 2415,7 | NS             | NS             | **                   | 181,37           |
| 12     | 3180,4                      | 3040,2 | 3499,4 | 3288,7 | 3183,1 | NS             | NS             | NS                   | 154,35           |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle × tratamentos com glicerina. <sup>4</sup>Erro padrão da média. \*Em horas após a alimentação matinal. \*P<0,05, \*\*P<0,01, NS=Não significativo.

A inclusão de glicerina bruta também alterou a quantidade de N, expressa em mg N/MS (P<0,01), sendo que quanto maior a dose de glicerina, menor a quantidade de N observada nas BSA (Figura 7B), principalmente no tempo 4 horas após a alimentação (Tabela 10), em que apresentou efeito linear decrescente (P<0,01) e efeito da inclusão de glicerina, independentemente da dose utilizada (P<0,01).

Esses resultados devem ser levados em consideração, visto que a maior parte do nitrogênio que o animal aproveita, advém do nitrogênio microbiano e essa queda poderia causar problemas decorrentes de deficiência de N disponível.

Tabela 10. Desdobramento da interação “tempo × tratamento” para a quantidade (mg N/kg MS) de nitrogênio na BSA

| Tempo* | Tratamento (% de glicerina) |       |       |       |       | Contrastes     |                |                      | EPM <sup>4</sup> |
|--------|-----------------------------|-------|-------|-------|-------|----------------|----------------|----------------------|------------------|
|        | G0                          | G7,5  | G15   | G22,5 | G30   | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0 × GLI <sup>3</sup> |                  |
| 2      | 255,8                       | 274,7 | 173,4 | 164,7 | 163,4 | NS             | NS             | NS                   | 27,85            |
| 4      | 254,2                       | 262,8 | 188,3 | 166,2 | 162,7 | **             | NS             | **                   | 18,69            |
| 12     | 339,2                       | 370,5 | 244,3 | 215,4 | 214,6 | NS             | NS             | NS                   | 18,74            |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle × tratamentos com glicerina. <sup>4</sup>Erro padrão da média. \*Em horas após a alimentação matinal. \*P<0,05, \*\*P<0,01, NS=Não significativo.

Não foi observado efeito ( $P>0,05$ ) da inclusão de glicerina sobre a porcentagem de N, expressa com base na MO (Figura 8). Foram observadas diferenças na porcentagem de MO apenas em relação ao tempo de colheita de conteúdo ruminal, em que quanto mais distante do horário de alimentação, menor o teor de N observado. Os resultados do presente estudo estão de acordo com trabalhos de FÁVARO (2010), a qual obteve valores entre 10 e 12% e de CECAVA et al. (1990), os quais obtiveram valor médio de 9,3%.

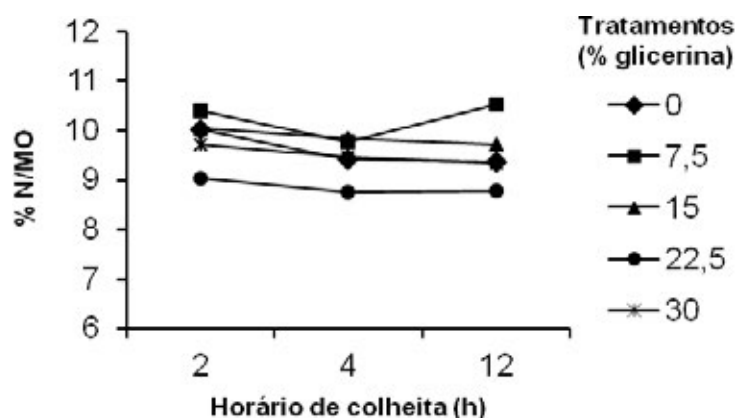


Figura 8. Porcentagem de nitrogênio, na matéria orgânica, das BSA do conteúdo ruminal de bovinos da raça Nelore alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta.

A inclusão de glicerina bruta não proporcionou modificações ( $P>0,05$ ) com relação à quantidade, em mg/L, de bactérias líquido-associadas (Figura 9A). Os valores encontrados para essa variável são inferiores aos obtidos para BSA, concordando com

FÁVARO (2010), a qual observou valores de BSA superiores aos observados em BLA e PLA, confirmando que a maior quantidade, em peso, advem das BSA.

Também não houve alteração da porcentagem de MO das BLA entre os tratamentos, havendo diferenças apenas quanto ao tempo de colheita de conteúdo ruminal, em que quanto mais distante do momento de alimentação, menor a porcentagem de MO observada (Figura 9B). Os valores observados neste estudo são inferiores aos obtidos por demais trabalhos, como de EZEQUIEL et al. (2002), os quais obtiveram valor médio de 81,6% e de CECAVA et al. (1990) constatando valor médio de 83%.

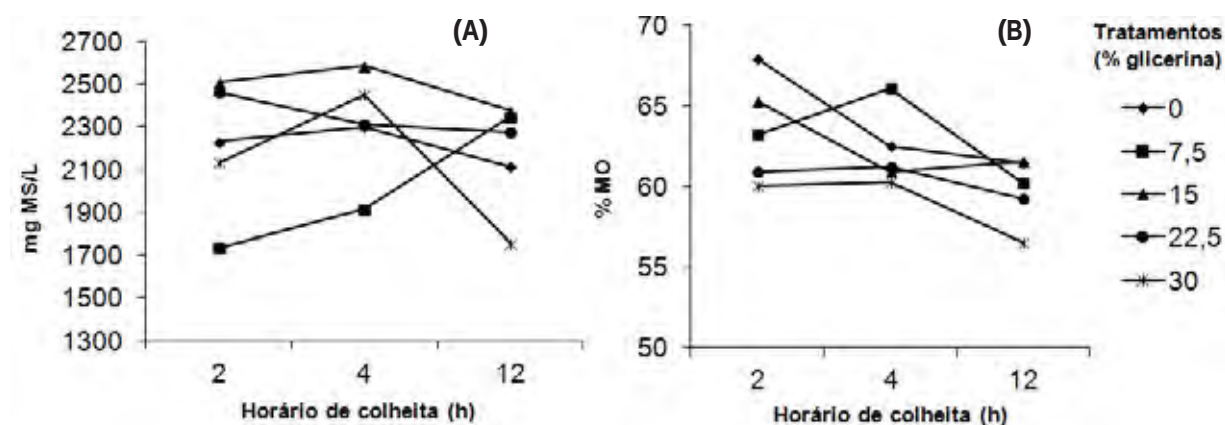


Figura 9. Quantificação das BLA (mg MS/L) (A) e %MO (B) das BLA do conteúdo ruminal de bovinos da raça Nelore alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta.

Não houve alteração da quantidade de BLA, expressa em mg MO/L, quando a glicerina foi adicionada (Figura 10A). Porém, quando foram avaliadas as quantidades de N das BLA, expressas em mg N/L, houve efeito dos tratamentos e do momento de colheita de líquido ruminal, em que os tratamentos contendo as concentrações intermediárias (7,5 e 15%) de glicerina, proporcionaram os maiores valores médios (Figura 10B).

Com relação à quantidade de BLA (mg MO/L), também foi observado efeito da interação tempo  $\times$  tratamento ( $P < 0,01$ ), após 4 horas de alimentação, a inclusão de glicerina promoveu efeito significativo, independente da concentração utilizada (Tabela 11).

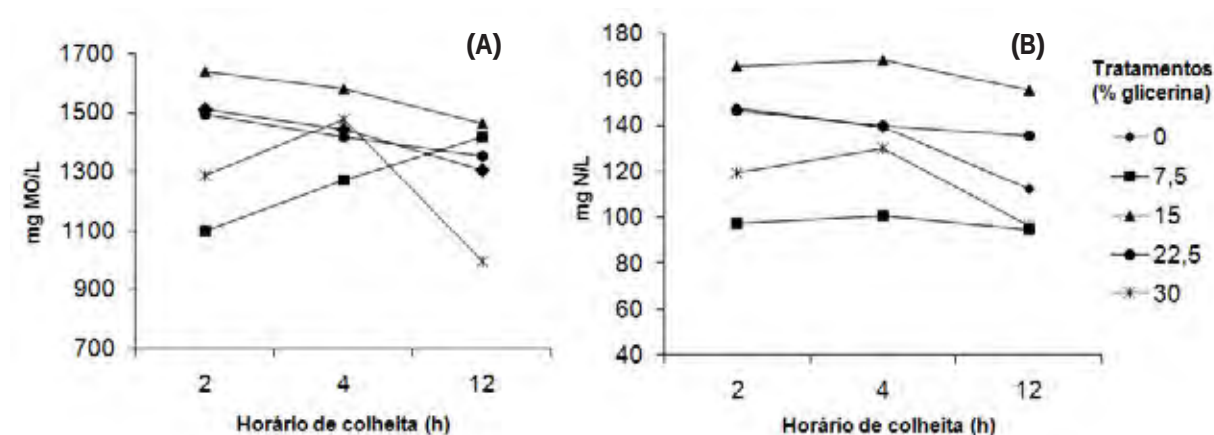


Figura 10. Quantidade de BLA (mg MO/L) (A) e quantidade de N (mg/L) nas BLA (B) do conteúdo ruminal de bovinos da raça Nelore alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta.

Devido à grande variação observada entre os valores de porcentagem de N, expressos com base na MO das bactérias líquido-associadas, não foi possível detectar, estatisticamente, diferenças promovidas pelos os tratamentos e tempos de colheita avaliados (Figura 11).

Em relação aos protozoários associados ao líquido (PLA), a única variável em que a adição de glicerina proporcionou efeito foi a porcentagem de MO (Figura 12B), em que houve efeito linear crescente da adição de glicerina 2 horas após a alimentação matinal (Tabela 12). Diferentemente, FÁVARO (2010) observou comportamento quadrático ( $p < 0,05$ ) quanto aos teores de MO (%MS) em que obteve maiores valores nos tratamentos com 0% e 20% de glicerina.

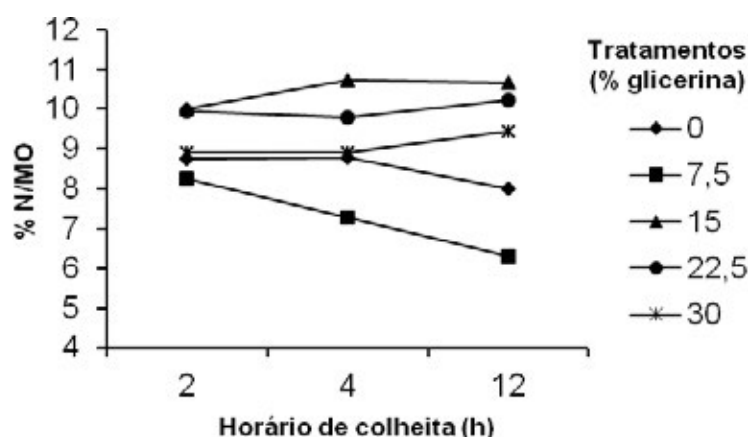


Figura 11. Porcentagem de nitrogênio na matéria orgânica das bactérias líquido-associadas do conteúdo ruminal de bovinos da raça Nelore alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta.

As demais variáveis avaliadas: quantidade de PLA, em mg MS/L (Figura 12A), quantidade de PLA, em mg MO/L (Figura 13A), quantidade de N, em mg/L (Figura 13B) e porcentagem de N, na MO de PLA (Figura 14), não apresentaram alteração com a inclusão de glicerina bruta às dietas dos animais e foram modificadas apenas entre os tempos de colheita de conteúdo ruminal.

Tabela 12. Desdobramento da interação “tempo × tratamento” para a porcentagem de MO nos PLA

| Tempo* | Tratamento (% de glicerina) |      |      |       |      | Contrastes     |                |                      | EPM <sup>4</sup> |
|--------|-----------------------------|------|------|-------|------|----------------|----------------|----------------------|------------------|
|        | G0                          | G7,5 | G15  | G22,5 | G30  | L <sup>1</sup> | Q <sup>2</sup> | 0 × GLI <sup>3</sup> |                  |
| 2      | 59,0                        | 59,5 | 57,8 | 62,3  | 58,9 | **             | NS             | NS                   | 2,72             |
| 4      | 59,9                        | 57,5 | 58,6 | 60,2  | 56,9 | NS             | NS             | NS                   | 2,32             |
| 12     | 58,3                        | 57,3 | 57,1 | 60,0  | 56,7 | NS             | NS             | NS                   | 1,09             |

<sup>1</sup>Linear. <sup>2</sup>Quadrático. <sup>3</sup>Tratamento controle × tratamentos com glicerina. <sup>4</sup>Erro padrão da média. \*Em horas após a alimentação matinal. \*P<0,05, \*\*P<0,01, NS=Não significativo.

A quantidade de PLA (mg MS/L) média encontrada neste estudo foi semelhante à obtida por FÁVARO (2010), que observou 1835,1 mg/L e muito inferior a obtida por EZEQUIEL et al. (2002), os quais obtiveram 3375,0 mg. As diferenças se devem

principalmente aos diferentes ingredientes utilizados para a formulação das dietas experimentais de cada trabalho.

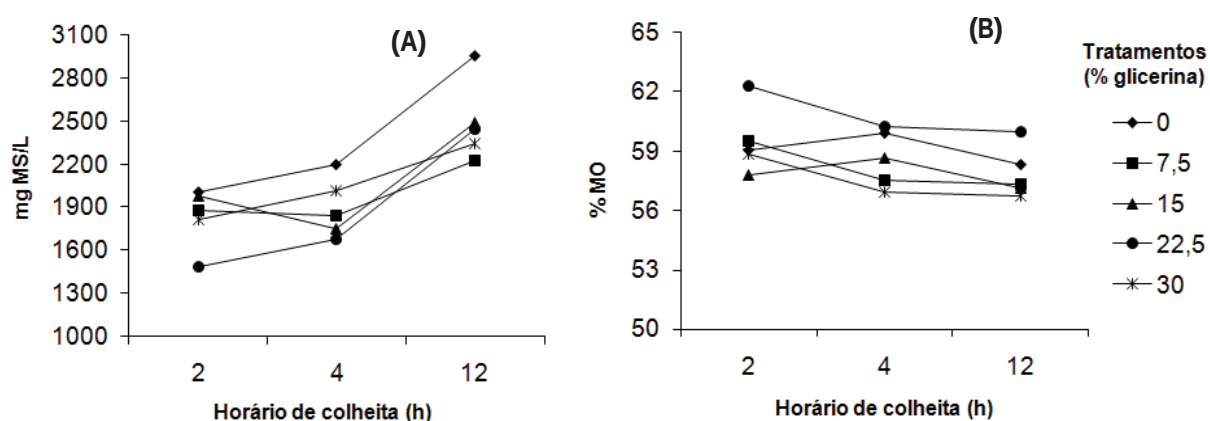


Figura 12. Quantificação dos PLA (mg MS/L) (A) e %MO dos PLA (B) do conteúdo ruminal de bovinos da raça Nelore alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta.

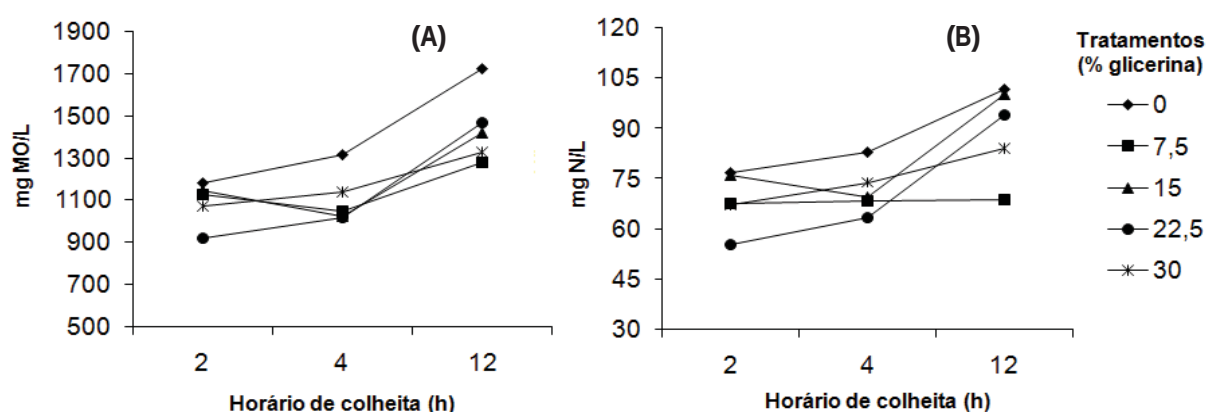


Figura 13. Quantificação dos PLA (mg MO/L) (A) e quantificação de N (mg/L) PLA (B) do conteúdo ruminal de bovinos da raça Nelore alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta.

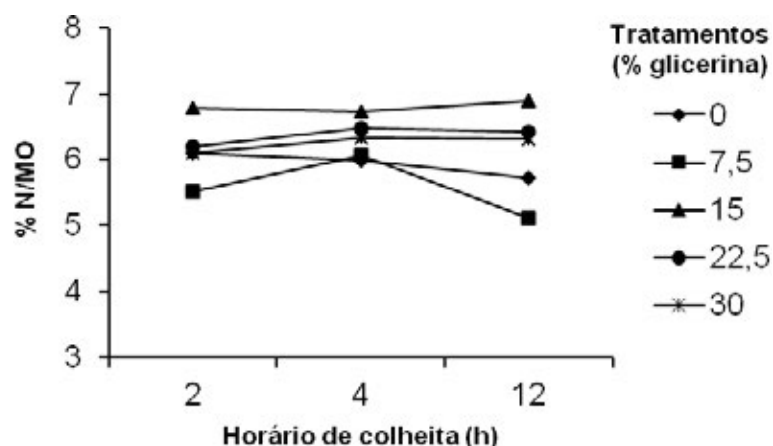


Figura 14. Porcentagem de N, na matéria orgânica, dos PLA do conteúdo ruminal de bovinos da raça Nelore alimentados com dietas contendo até 30% de glicerina bruta.

## Conclusões

A inclusão de até 30% de glicerina bruta promove aumento nas concentrações dos ácidos graxos propiônico, valérico e butírico e diminuição na concentração molar de ácido acético e na relação acetato:propionato. Além disso, a glicerina promove diminuição da produção dos gases  $\text{CH}_4$  e  $\text{CO}_2$ , e também afeta a produção e qualidade de microorganismos ruminais, em especial os sólido-aderidos.

## Referências

ARAUJO, R. C. Óleos essenciais de plantas brasileiras como manipuladores da fermentação ruminal in vitro. 178f. **Tese** (Doutorado em Ciências). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2010.

AVILA, J.S. et al. 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, p.265-268, 2011.

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.

CECAVA, M.J. et al. 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.

CHURCH, D.C. **Digestive Physiology and Nutrition of Ruminates**. Vol. 1 – Digestive Physiology. 3 ed. Nutrition Reserve Review, Bethesda v.3, n.3, p.277-303, 1979.

COTTON, W.R. & PIELKE, R.A. **Human impacts on weather and climate**. Cambridge: Cambridge University Press, 1995. 288p.

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**, v.27, p.131-146, 1972.

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

EL-NOR, S.A. et al. Effect of differing levels of glycerol on rumen fermentation and bacteria. **Animal Feed Science and Technology**, v.162, p.99-105, 2010.

EZEQUIEL, J.M.B. et al. Quantificacao das bacterias solido-aderidas, bacterias e protozoarios liquido-associados do rumen de bovinos jovens alimentados com amireia.

**Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.707-715, 2002.

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

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

GRANT, R.J. & MERTENS, D. R. Influence of buffer pH and raw corn starch addition on in vitro fiber digestion kinetics. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.2762-2768, 1992.

HUNGATE, R.E. **The rumen and its microbes**. 2 ed. London: Academic Press, 1966. 533p.

JOHNSON, K.A. & JOHNSON, D.E. Methane emissions from cattle. **Journal of Animal Science**, v.73, n.8, p.2483-2492, 1995.

KHALILI, H., T. et al. 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. **Agricultural and Food Science in Finland**, v.6, p.349-362, 1997.

KRUEGER, N.A. et al. Evaluation of feeding glycerol on free-fatty acid production and fermentation kinetics of mixed ruminal microbes in vitro. **Bioresource Technology**, v.101, n.21, p.8469-8472, 2010.

LEE, S.Y. et al. 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.

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, n.2, 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.

MEHREZ, A.Z.; ØRSKOV, E.R.; McDONALD, I. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. **British Journal Nutrition**, v.38, n.3, p.437-443, 1977.

MICHALET-DOREAU, B. et al. 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.

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

OLSON, K.C. et al. 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.

ORSKOV, E.R. **Nutrición proteica de los ruminantes**. Zaragoza: ACRIBIA, 1988. 178p.

ØRSKOV, E.R. & TYLE, M. **Energy nutrition in ruminants**. Cambridge: Elsevier Science Publishers. 1990. 146p.

OWENS, F.N. & ZINN, R. Metabolismo de la proteína en los rumiantes. In: CHURCH, D.C. (Ed.) **El rumiante: fisiología digestiva e nutrición**. Zaragoza: Acribia. 3.ed. 1988. p.255-281.

PRITCHARD, R. H. **Bunk management**. Land O' Lakes Beef Seminar, Cedar Rapids, IA, Columbus, NE, and Storm Lake, IA, March 1–4:4. Land O' Lakes Inc., St. Paul, MN, 1993.

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.

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

RUSSEL, J.B. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. 1. Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3551-3561, 1992.

SANTOS, F. A. P. **Metabolismo de proteínas**. In: BERCHIELLI, T. T.; ALEXANDRE, V. P.; OLIVEIRA, S. G. (Ed.). *Nutrição de ruminantes*. Jaboticabal: Funep, 2006. p. 255-284.

SATTER, L.D. & ROFFLER, R.E. Nitrogen requirement and utilization in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.58, n.8, p.1212-1237, 1979.

SILVA, D.J. & QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos** (métodos químicos e biológicos). 3 ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 235p.

STRADIOTTI JUNIOR, D. et al. 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.

TRABUE, S. et al. Ruminal fermentation of propylene glycol and glycerol. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.55, p.7043-7051, 2007.

VAN CLEEF, E.H.C.B.; UWITUZE, S.; DROUILLARD, J.S. Effects of crude glycerin on in vitro gas production, dry matter disappearance, VFA profiles, and composition of fermentative gasses. **Proceedings...** In: ADSA -ASAS Joint Annual Meeting, 2011, New Orleans. Proceedings of ADSA -ASAS Joint Annual Meeting, 2011. **Journal of Animal Science**, v. 94, E-Suppl. 1.

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

WANG, C. et al. Effects of glycerol of rumen fermentation, urinary excretion of purine derivatives and feed digestibility in steers. **Livestock Science**, v.121, 15-20, 2009.

## CAPÍTULO 6 – IMPLICAÇÕES

A introdução da glicerina bruta em dietas para animais parece ser inevitável em um futuro próximo, principalmente em países como o Brasil, com enorme potencial de produção de plantas oleaginosas para produção de biodiesel. A substituição de ingredientes convencionais, como o milho, por exemplo, por sub e coprodutos da agroindústria se tornará uma necessidade, uma vez que a pecuária competirá com a alimentação humana por aqueles ingredientes “nobres”.

Existem alguns entraves para a utilização da glicerina bruta em larga escala no Brasil. Entre eles está a falta de padronização e legislação normativa sobre o produto “glicerina bruta”. No país, é possível encontrar glicerina com teores de glicerol variando entre 30 e 90%, além de grande quantidade de minerais e produtos tóxicos oriundos de processos ineficientes de produção de biodiesel, em que o álcool e os catalisadores utilizados na cadeia não são totalmente recuperados, gerando possíveis problemas de saúde aos animais e aos humanos que virem a consumir seus produtos.

Outro ponto a ser discutido daqui para frente será a forma de apresentação da glicerina para que essa possa ser fornecida em grande escala e para rebanho de número elevado. A glicerina bruta é um produto líquido em temperatura ambiente e isso se torna um problema quando a concentração utilizada é superior a 15%, a partir da qual não é mais possível misturar aos ingredientes concentrados tampouco peletizá-los. Novos métodos de secagem ou agregação da glicerina a algum produto seco devem ser desenvolvidos para sanar esse problema.

Está claro, após análise deste trabalho e avaliando relatos preliminares, que a glicerina bruta promove efeito negativo sobre o aproveitamento da fração fibrosa dos alimentos pelos animais. Esse mecanismo ainda está obscuro e pesquisas devem ser conduzidas com o objetivo de identificar e propor alternativas para tal problema, visto que em países como o Brasil, onde as pastagens e dietas de confinamento com elevada quantidade de alimentos volumosos são amplamente utilizados, esse efeito negativo pode trazer prejuízos econômicos aos produtores.