

ELIAS SAN VITO

GLICERINA BRUTA NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2010

ELIAS SAN VITO

GLICERINA BRUTA NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Aprovada: 08 de Julho de 2010.

---

Prof. Sebastião de C. Valadares Filho  
(Co-Orientador)

---

Prof. Marcelo de Andrade Ferreira

---

Prof<sup>a</sup>. Rilene Ferreira Diniz Valadares

---

Prof. Rogério de Paula Lana

---

Prof. José Maurício de Souza Campos  
(Orientador)

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Ledo e Idelve e meus irmãos Ivete, Ivanor e Diego, pelo amor e carinho e principalmente por acreditar que isso seria possível.

Ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade e pelo apoio na realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (INCT) de Ciência Animal pelo financiamento do projeto.

Ao professor José Maurício de Souza Campos, pela confiança e orientação.

Aos professores Sebastião de Campos Valadares Filho e Edênio Detmann pelos importantes ensinamentos.

Aos professores Rogério de Paula Lana, Rilene Ferreira Diniz Valadares Filho e Marcelo de Andrade Ferreira pela participação na banca avaliadora.

Ao professor André Soares de Oliveira por toda a ajuda e conselhos.

Aos meus amigos Mateus Pies Gionbelli e Rafael Mezzomo, pelo companheirismo, incondicional apoio e valiosa amizade.

Ao meu amigo Edfran Stocco Granado, pela dedicação na realização do experimento.

A Kássia Armondes, pela dedicação e apoio.

A república “Os Cavalos Deitados”, nas pessoas de Goiano, Edfran, Daniel, Hamilton, Luizão, Leo, Guella, Liminha, Rafael, por ser minha casa em Viçosa, pela amizade e companheirismo em todas as horas.

Aos amigos e colegas: João Paulo, Simone, Amanda, Ivanna, Goiano, Denise, Márcia e demais, pelo intercâmbio de conhecimento e idéias, pelo convívio, apoio e valiosa amizade.

Aos funcionários da Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Gado de Leite, do Laboratório de Nutrição Animal e da Zootecnia, pelas contribuições na realização deste trabalho.

A todos que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho.

## **BIOGRAFIA**

ELIAS SAN VITO, filho de Ledo San Vito e Idelve Terezinha San Vito, nasceu em Maravilha, Estado de Santa Catarina, em 16 de novembro de 1985.

Em 2004, ingressou na Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, onde obteve o título de Zootecnista, colando grau em 19 de julho de 2008.

Em março de 2009, iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa, concentrando seus estudos na área de Nutrição e Produção de Ruminantes, defendendo tese em 8 de julho de 2010.

## CONTEÚDO

RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vii
INTRODUÇÃO.....	1
Material e Métodos.....	5
Resultados e Discussão.....	14
Conclusões.....	26
Literatura Citada.....	27

## RESUMO

SAN VITO, Elias, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Julho de 2010. **Glicerina bruta na alimentação de vacas leiteiras.** Orientador: José Maurício de Souza Campos. Co-orientadores: Sebastião de Campos Valadares Filho e Edenio Detmann.

O crescimento da participação de biodiesel na matriz energética mundial aumentou o interesse no cultivo e processamento de oleaginosas, criando oportunidades para a produção de ruminantes pela possibilidade de utilização de co-produtos resultantes do processo de extração do óleo das sementes dessas oleaginosas e transformação do óleo em biodiesel. A glicerina é um triol viscoso, incolor, inodoro e higroscópico resultante, entre outros, do processo de transformação de um triglicerídeo em biodiesel, a partir de uma reação de transesterificação, na presença de um catalisador e de um álcool de cadeia curta (metanol ou etanol). Nesse processo, a glicerina denominada glicerina bruta, contém de 75 a 85% de glicerol, sendo o restante composto por água, óleo (7 a 13%), minerais oriundo dos catalisadores (2 a 3%) e álcool (<0,5%). Nesse sentido, avaliou-se o efeito da substituição do milho grão (MG) pela glicerina bruta (GB), nas proporções de 0%; 33,3%; 66,6% e 100%, na base da matéria seca (MS), sobre o consumo, a digestibilidade, o desempenho produtivo e o metabolismo de compostos nitrogenados (N) em vacas de leite. Foram utilizadas 12 vacas da raça Holandesa, distribuídas em três quadrados latinos 4 x 4, de acordo com o período de lactação. Os animais receberam ração na proporção de 50:50 em volumoso e concentrado, com base da MS. Utilizou-se silagem de milho como fonte exclusiva de volumoso. Realizou-se à análise de variância para comparação de médias e posteriormente, procedeu-se o teste de Williams, utilizando nível de 5% de probabilidade para o erro tipo I. O consumo de MS foi reduzido ( $P < 0,05$ ) a partir de 33,3% de substituição de MG por GB na dieta. Os consumos de MO, PB, FDN, FDNcp e FDAi seguiram a mesma tendência, reduzindo ( $P < 0,05$ ) a partir de 33,3% de substituição. O consumo de EE aumentou ( $P < 0,05$ ) a partir do nível de 66% de substituição, no entanto, não houve efeito significativo ( $P > 0,05$ ) para o consumo de CNF. Apesar da digestibilidade da MS, MO, PB, CNF e o teor de NDT (% da MS) terem aumentado ( $P < 0,05$ ) a partir de 66,6% de substituição do MG pela GB, os consumos de MS, MO digeridos e de NDT não foram influenciados significativamente ( $P > 0,05$ ) pela substituição nas dietas. A digestibilidade do EE aumentou significativamente ( $P < 0,05$ ) a partir do nível de 33,3% de substituição, enquanto que o consumo de componentes digeridos da PB reduziu ( $P < 0,05$ ) a partir do nível de 33,3% de substituição do MG pela GB da dieta. Mesmo não havendo

redução do consumo de energia digestível, a inclusão de GB nas dietas acarretou redução ( $P < 0,05$ ) da síntese de N microbiano ruminal, a partir do nível de 33% de substituição. A produção de leite (PL) e PL corrigida para 3,5% de gordura (PLC) apresentaram redução ( $P < 0,05$ ) a partir do nível de 66,6% de substituição do MG pela GB, enquanto que não houve efeito ( $P > 0,05$ ) do aumento dos níveis de GB nas dietas sobre a composição do leite, relação entre o teor de proteína e gordura do leite e eficiência alimentar dos animais. Concluiu-se que a GB pode substituir até 33,3% o MG da dieta de vacas leiteiras com produção média de 30 kg/dia de leite sem que haja redução significativa da produção de leite.

## ABSTRACT

SAN VITO, Elias, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July 2010. **Crude glycerin as feed for dairy cows.** Adviser: José Maurício de Souza Campos. Co-advisers: Sebastião de Campos Valadares Filho and Edenio Detmann.

The growth in the share of biodiesel in the world energy grid has increased the interest in the cultivation and processing of oil, creating opportunities for the production of ruminant by the possibility of using co-products resulting from the extraction of oil from these oil seeds and oil processing into biodiesel. Glycerin is a triol viscous, colorless, odorless and hygroscopic resulting, among others, the process of transformation of triglycerides into biodiesel from a transesterification reaction in the presence of a catalyst and a short chain alcohol (methanol or ethanol). In this process, the glycerin or crude glycerin contains 75-85% glycerol, with the remainder comprising water, oil (7-13%), minerals coming from the catalyst (2-3%) and alcohol (<0.5 %). Accordingly, we evaluated the effect of replacing corn grain (C) by the crude glycerin (CG), in proportions of 0%, 33.3%, 66.6% and 100% on the basis of dry matter (DM) on intake, digestibility, productive performance and metabolism of nitrogen compounds (N) in dairy cows. It was used 12 Holstein cows, in three Latin Squares 4 x 4, according to the lactation period. The animals were given at a ratio of 50:50 forage and concentrate, DM basis. It was used corn silage as the sole source of roughage. Was performed the analysis of variance for comparison of means and thereafter proceeded to the Williams test, using the 5% level of probability for error type I. The intake was reduced ( $P < 0.05$ ) from 33.3% substitution per CG of C in the diet. Intakes of OM, CP, NDF, and iADF NDFap followed the same trend, decreasing ( $P < 0.05$ ) from 33.3% substitution. The intake of fat compounds increased ( $P < 0.05$ ) from the level of 66% substitution, however, no significant effect ( $P > 0.05$ ) for the consumption of NFC. Although the digestibility of DM, OM, CP, NFC and TDN content (% DM) have increased ( $P < 0.05$ ) from 66.6% replacement of the C, CG, DM, OM digested and TDN did not differ significantly ( $P > 0.05$ ) by replacing the diets. The digestibility of the fat compounds increased significantly ( $P < 0.05$ ) from the level of 33.3% replacement, while the consumption of components of digested CP decreased ( $P < 0.05$ ) from the level of 33.3 MG% replacement of the CG diet. Although there is no reduction in digestible energy intake, the inclusion of CG the diets caused a reduction ( $P < 0.05$ ) rumen microbial N synthesis from the 33% level of substitution. Milk production (MP) and MP corrected to 3.5% fat (PLC) had decreased ( $P < 0.05$ ) from the 66.6% level of substitution

of C by the CG, whereas no effect ( $P > 0.05$ ) increased levels of CG in the diet on milk composition, ratio of protein and milk fat and feed efficiency. It was concluded that CG can replace up to 33.3% of the C in the diet of dairy cows with average production of 30 kg of milk per day without significant reduction in milk production.

## INTRODUÇÃO

As mudanças na cadeia produtiva do leite que ocorreram nas últimas décadas, aliadas ao grande potencial de crescimento desse setor, devido à disponibilidade de recursos naturais, como terra, água e infra-estrutura, elevaram a produção de leite a um lugar de destaque no agronegócio brasileiro.

O Brasil apresenta um dos menores custos de produção de leite do mundo (Carvalho, 2007), destacando-se ainda por possuir uma grande disponibilidade de produtos para utilização como ingredientes em dieta para animais. Atualmente, o crescimento da participação de biodiesel na matriz energética mundial estimulou o interesse no cultivo e processamento de oleaginosas no Brasil, criando oportunidades para a produção de ruminantes, pela possibilidade de utilização de co-produtos resultantes do processo de extração do óleo das sementes e transformação deste em biodiesel.

A utilização na alimentação animal apresenta-se como uma das opções para o aproveitamento econômico e em larga escala de co-produtos da produção de biodiesel, notadamente em animais ruminantes. Existe assim, a integração entre as cadeias de produção de biodiesel e da pecuária, otimizando a geração de empregos e renda, minimizando os passivos ambientais e ofertando maior leque de opções para os produtores. Todavia, o conhecimento sobre o uso desses co-produtos, sobretudo da glicerina bruta ainda é incipiente e não permite gerar informações confiáveis para o uso na alimentação de ruminantes. Neste sentido, estudos que permitem gerar informações sobre a melhor forma de utilização da glicerina bruta como fonte de alimento energético na alimentação de ruminantes faz-se necessário, para garantir a sustentabilidade desta integração.

A glicerina é um triol viscoso, incolor, inodoro e higroscópico resultante, entre outros, do processo de transformação de um triglicerídeo em biodiesel, a partir de uma reação de transesterificação, na presença de um catalisador e de um álcool de cadeia curta (metanol ou etanol). Nesse processo, a glicerina, denominada glicerina bruta, contém de 75 a 85% de glicerol, sendo o restante composto por água, óleo (7 a 13%), minerais oriundo dos catalisadores (2 a 3%) e álcool (<0,5%) (Donkin & Doane, 2007).

Para cada 90 m<sup>3</sup> de biodiesel produzidos são gerados 10 m<sup>3</sup> de glicerina. Com a obrigatoriedade da adição de biodiesel ao diesel de petróleo, espera-se um excedente anual de 150 mil toneladas para o ano de 2013 (B5), o que possivelmente levará a uma redução nos preços. Esse cenário indica a necessidade de viabilização comercial deste volume extra de glicerina, buscando outras aplicações. Atualmente, a glicerina purificada (com 99,5% de glicerol) é aplicada na indústria de cosméticos, saboaria e fármacos, setores incapazes de sozinhos, absorverem o volume de glicerina gerado com a produção de biodiesel (Gonçalves et al., 2006).

Com a perspectiva de redução nos preços, a glicerina apresenta-se como fonte competitiva de alimento energético em relação aos grãos para animais. O glicerol no rúmen é fermentado principalmente a propionato, sendo este o principal precursor gliconeogênico em animais ruminantes. Parte do glicerol ingerido que escapa da fermentação ruminal é absorvido no intestino delgado e metabolizado no fígado a gliceraldeído 3-fosfato, que poderá ser degradado via glicólise para produção de energia ou produzir glicose via gliconeogênese, dependendo do estado fisiológico do animal (Lin, 1977). Quando a demanda de glicose é alta, como o caso de vacas leiteiras de alta produção no período de transição, o glicerol é usado preferencialmente via gliconeogênese. Em razão disso, a maioria dos estudos científicos sobre o uso da glicerina (purificada) limitaram sua aplicação no tratamento de desordens metabólicas

em vacas de leite de alta produção, utilizando-se baixos níveis na dieta (< 5%, base da MS), sendo amplamente documentado (Johnson et al., 1954; Fisher et al., 1971; 1973; DeFrain et al., 2004). No entanto, existem poucas informações sobre o uso como macro-ingredientes em dietas de ruminantes. Em estudo recente, pesquisadores americanos avaliaram o uso da glicerina de óleo vegetais bi-destilada (99,5% de glicerol) em dietas de vacas de leite de alta produção (37 kg/dia) e concluíram que o glicerol pode ser usado como macro-ingredientes em até 15%, base da MS da dieta, em substituição ao milho grão, sem afetar o consumo de matéria seca, a produção e a composição do leite (Donkin & Doane, 2007). Todavia, como a glicerina obtida do processo de transesterificação do óleo apresenta-se na forma bruta, com impurezas, os impactos no consumo, na digestibilidade dos nutrientes e no desempenho animal podem ser diferentes aos obtidos com a glicerina purificada, de custo mais elevado.

Abughazaleh et al. (2008) testaram parâmetros digestivos de dietas em que a incorporação de glicerol variou de 0 a 45% da matéria seca e verificaram que até o nível de 15%, em substituição ao milho, não houve efeito adverso sobre a digestibilidade da fibra, embora a relação acetato : propionato tenha diminuído nos níveis mais altos de inclusão de glicerol. Hess et al. (2008) também especularam que a glicerina bruta, quando usada até o nível de 15%, pode não influenciar a digestibilidade da matéria seca e da fibra da dieta. Resultados apontados por esses mesmos autores indicam que em novilhas pré-púberes, suplementadas com dietas à base de casca de soja, o ganho médio diário foi comparável entre dietas, até o nível de inclusão de glicerina bruta de 25%. Drouillard (2008) reportou que em dietas de alto concentrado, em que a glicerina bruta foi incluída ao nível de 10%, o consumo de matéria seca foi reduzido, embora o ganho de peso tenha aumentado, resultando em eficiência alimentar entre 16 e 23% melhor quando comparada à dieta controle, sem uso de glicerina.

Diante do exposto, é fato de que a glicerina purificada (99,5% de glicerol) pode ser usada na alimentação de vacas leiteiras, até o nível de 15% em base da matéria seca, sem que haja prejuízo no consumo de matéria seca e na produção e composição do leite. Assim, estudos sobre a viabilidade econômica e biológica do uso da glicerina bruta (84% glicerol) na alimentação de vacas leiteiras são inexistentes, o que limita o uso deste material na alimentação animal. Além disso, as informações existentes não possibilitam gerar recomendações nutricionais precisas do seu uso na alimentação de bovinos de maior potencial de produção.

Assim, este trabalho foi desenvolvido para avaliar o efeito da inclusão da glicerina bruta, em substituição ao milho grão nas proporções de 0%; 33,3%, 66,6% e 100%, na MS da dieta, sobre o consumo e digestibilidade dos componentes da dieta, o desempenho produtivo e o metabolismo de compostos nitrogenados em vacas lactantes com produção média de 30 kg de leite/dia.

## Material e Métodos

O experimento foi conduzido na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Gado de Leite, Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, no período de setembro a novembro de 2009. Foram utilizadas 12 vacas da raça Holandesa, distribuídas em três quadrados latinos 4 x 4, de acordo com o período de lactação. Os animais iniciaram o experimento com média de 70 dias de lactação e no final do experimento apresentaram menos de 150 dias de gestação. O experimento foi constituído por quatro períodos, com duração de 21 dias cada, sendo os 14 primeiros dias de adaptação às dietas e os demais para coleta de dados. Os animais foram alimentados com quatro dietas experimentais referentes a quatro proporções de substituição do milho grão (MG) pela glicerina bruta (GB): 0%; 33,3; 66,6% e 100%, na base da matéria seca (MS), que corresponderam a 0%, 7%, 14% e 21% de inclusão de GB na dieta (MS).

As dietas foram formuladas para serem isonitrogenadas, contendo 16% de proteína bruta (PB), de forma a atender as exigências nutricionais de uma vaca com 600 kg de peso corporal, produzindo 30 kg/dia de leite com 3,5% de gordura (NRC, 2001). O glúten de milho (63 %PB) e a mistura contendo nove partes de uréia e uma parte de sulfato de amônio foi utilizada para ajustar o teor de PB da dieta. Os animais receberam ração na proporção de 50:50 em volumoso e concentrado, com base da MS. Silagem de milho foi utilizada como fonte exclusiva de volumoso. A mistura de microminerais foi balanceada para atender 100% das exigências nutricionais, segundo o NRC (2001) (Tabela 1).

A ração concentrada foi misturada no início de cada período, sendo amostrado cada alimento. Os animais foram manejados em baias individuais, tipo *Tie Stall*, onde receberam alimentação fornecida *ad libitum* duas vezes ao dia, às 7:00 e às 16:00 horas.

A silagem, a ração concentrada e a GB foram pesados separadamente e misturados dentro do cocho dos animais da hora do fornecimento da alimentação.

Tabela 1 – Proporção dos ingredientes nas dietas experimentais, em porcentagem na material seca

Ingredientes	Níveis de substituição do milho grão pela GB			
	0	33,3	66,6	100
Silagem de milho	49,92	49,98	50,05	50,12
Milho grão moído	21,00	14,02	7,02	0,00
Glicerina bruta <sup>1</sup>	0,00	6,88	13,78	20,70
Farelo de soja	18,54	18,57	18,59	18,62
Farelo de trigo	9,06	8,34	7,60	6,88
Glúten de milho	0,00	0,60	1,21	1,81
Uréia/sulfato de amônio <sup>2</sup>	0,00	0,13	0,26	0,39
Mistura mineral <sup>3</sup>	1,48	1,48	1,49	1,49

<sup>1</sup> Glicerina bruta com 84% de glicerol. <sup>2</sup> relação 9:1; <sup>3</sup> 44,60% de Calcário (Ca) ; 9% de fosfato bicálcico (P); 1,5% de Sulfato de Mg (Mg); 1,23% de flor de enxofre (S); 20% de bicarbonato de sódio; 22% de sal (Na); 2300 ppm de Cu; 8000 ppm de Zn; 1800 ppm de Mn; 160 ppm de I; 185 ppm de Co; 40 ppm de Se.

No período de coleta, foram feitas pesagens e amostragens diárias de silagem de milho e rações concentradas fornecidas e das sobras de cada tratamento. As amostras foram armazenadas a -15°C para posteriores análises químicas.

As fezes foram coletadas diretamente na ampola retal, uma vez ao dia, às 8:00, 10:00, 12:00, 14:00 e 16:00 horas, do 16º ao 20º dias de cada período experimental, respectivamente. As amostras diárias de fezes de cada animal, em cada período, foram armazenadas a -15°C para posterior secagem e análises químicas.

As amostras de silagem de milho e de fezes foram secas em estufa com ventilação forçada (60°C/72 horas) e, juntamente com os alimentos foram processadas em moinho de facas com peneiras de porosidade de 1 mm para análises químicas. Das amostras

diárias de fezes secas ao ar de cada animal, em cada período, foram feitas amostras compostas. A composição química dos alimentos e das dietas são apresentados nas tabelas 2 e 3, respectivamente.

Tabela 2 – Composição química dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais

Itens <sup>1</sup>	Alimentos					
	Silagem de milho	Milho grão	Farelo de soja	Farelo de trigo	Glúten de milho	Glicerina bruta
MS (%)	27,06	87,78	88,48	88,05	90,58	89,66
MO <sup>2</sup>	95,69	98,99	93,93	95,30	98,33	92,52
PB <sup>2</sup>	6,27	8,80	50,70	18,18	68,85	0,00
NNP <sup>3</sup>	43,29	10,02	10,04	18,00	6,74	0,00
NIDN <sup>3</sup>	15,45	21,27	16,43	21,82	11,08	0,00
EE <sup>2</sup>	3,05	4,12	1,58	3,31	3,33	6,94
FDN <sub>cp</sub> <sup>2</sup>	52,16	16,88	16,54	39,86	4,41	0,00
CNF <sup>2</sup>	32,40	69,16	25,11	33,95	21,74	85,58
FDA <sub>i</sub> <sup>2,4</sup>	14,71	0,24	0,54	7,85	0,00	0,00

<sup>1</sup>MS = Matéria seca; MO = Matéria orgânica; PB = Proteína bruta; NNP = Nitrogênio não protéico; NIDN = nitrogênio insolúvel em detergente neutro; EE = Extrato etéreo; FDN<sub>cp</sub> = Fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; CNF = Carboidratos não-fibrosos; FDA<sub>i</sub> = Fibra em detergente ácido indigestível. <sup>2</sup>% da MS; <sup>3</sup>% do N total; <sup>4</sup>Obtido após incubação ruminal *in situ* por 264 horas.

A quantidade total de MS fecal excretada foi estimada pela concentração de fibra em detergente ácido indigestível (FDA<sub>i</sub>), obtidas após incubação ruminal dos alimentos, sobras e fezes em sacos F57 (Ankon®) por 264 horas, segundo Casali et al. (2008).

As análises dos teores de MS e PB (nitrogênio total x 6,25) foram realizadas segundo métodos descritos em Silva & Queiroz (2002). Para análise da concentração de fibra em detergente neutro (FDN), as amostras foram tratadas com alfa amilase termoestável sem uso de sulfito de sódio, corrigidas para o resíduo de cinzas (Mertens, 2002) e para o resíduo de compostos nitrogenados (Licitra et al., 1996). As análises de FDN

foram realizadas em analisador de fibra (Ankon 220<sup>®</sup>), utilizando sacos de TNT (tecido-não-tecido), com dimensões de 5 x 5 cm, mantendo-se relação média de 20 mg de MS/cm<sup>2</sup> de tecido e 100 mL de detergente/g de amostra seca ao ar. A quantificação de nitrogênio não protéico (NNP) dos alimentos foi realizada segundo Licitra et al. (1996).

Tabela 3 – Composição química média das dietas experimentais ofertadas

Itens <sup>1</sup>	Nível de substituição do milho grão pela GB (% da MS) <sup>4</sup>			
	0	33,3	66,7	100
MS, %	57,79	57,91	58,02	58,14
MO <sup>2</sup>	94,60	94,17	93,75	93,32
PB <sup>2</sup>	16,03	16,07	16,14	16,18
NNP <sup>3</sup>	27,20	26,50	25,80	25,10
NIDN <sup>3</sup>	17,20	15,64	14,07	12,50
EE <sup>2</sup>	2,98	3,17	3,36	3,55
FDN <sub>cp</sub> <sup>2</sup>	36,26	34,86	33,45	32,04
CNF <sup>2</sup>	39,34	40,31	41,28	42,26
FDA <sub>i</sub> <sup>2</sup>	8,20	8,14	8,08	8,01

<sup>1</sup>MS = Matéria seca; MO = Matéria orgânica; PB = Proteína bruta; NNP = Nitrogênio não protéico; NIDN = nitrogênio insolúvel em detergente neutro; EE = Extrato etéreo; FDN<sub>cp</sub> = Fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; CNF = Carboidratos não-fibrosos; FDA<sub>i</sub> = Fibra em detergente ácido indigestível. <sup>2</sup>% da MS. <sup>3</sup>% do N total. <sup>4</sup>GB = Glicerina bruta com 84% de glicerol.

Os teores de carboidratos não-fibrosos (CNF) das dietas foram calculados adaptando-se o proposto por Hall (2000), sendo: CNF = 100 - [(%PB - %PB derivada da uréia + %uréia) + %FDN<sub>cp</sub> + %EE + %Cinzas]. Os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram calculados com adaptações ao descrito por Weiss (1999), pela seguinte equação: NDT (%) = PBD + FDN<sub>cp</sub>D + CNF<sub>cp</sub>D + 2,25EED, em que : PBD = proteína bruta digestível; FDN<sub>cp</sub>D = fibra em detergente neutro digestível; CNF<sub>cp</sub>D = carboidratos não-fibrosos digestíveis; e EED = extrato etéreo digestível.

O teor de glicerol (84,41%), ácidos graxos totais (6,95%) e metanol (8,64%) da glicerina bruta foram obtidos por cromatografia gasosa em cromatógrafo a gás modelo CG 17ª marca SHIMADZU com detector FID. A amostra foi colocada em um funil de separação de 250 mL e extraída com volume de 25 mL de água. A mistura foi agitada várias vezes, sendo em seguida deixada em repouso por 1 hora. Foram formadas duas fases, em que a fase inferior foi recolhida e posteriormente injetada no cromatógrafo a gás. Foi utilizada coluna capilar carbowax (30 m x 0,25 mm). Para a separação cromatográfica, 1 µL de amostra foi injetado com auxílio de seringa de 10 µL (Hamilton®) sistema Split = 10. O gás nitrogênio foi utilizado como carreador com velocidade linear programada para 26,4 cm/s e os gases hidrogênio e ar sintético foram a chama do detector. As temperaturas do injetor e do detector foram de 280°C e 300°C, respectivamente. A temperatura inicial da coluna foi de 40°C (mantida por 7 minutos), aumentando em 2°C por minuto até atingir 80°C e 6°C por minuto até atingir 240°C (mantida por 40 minutos), totalizando 93 minutos de análise. O fluxo do gás de arraste na coluna foi de 1,09 mL/minuto. A identificação dos compostos foi realizada através do tempo de retenção do padrão correspondente.

As vacas foram ordenhadas mecanicamente, duas vezes ao dia, fazendo-se o registro da produção de leite do 15º ao 21º dia de cada período experimental. Por meio de dispositivo acoplado à ordenhadeira foram coletadas amostras de leite, aproximadamente 300 mL, no 18º e 19º dia, nas ordenhas da manhã e da tarde, fazendo-se amostras compostas de cada dia de acordo com a produção de leite. Foram retiradas de cada amostra composta, duas alíquotas: a primeira alíquota (50 mL) foi acondicionada em frasco plástico com conservante (Bronopol®), mantidos entre 2 e 6°C, e encaminhada para o Laboratório de Análises de Leite do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, para avaliação dos teores de lactose, gordura,

proteína, extrato seco total e extrato seco desengordurado, segundo métodos descritos pelo International Dairy Federation (1996); a segunda alíquota foi desproteïnizada com ácido tricloroacético (10 mL de leite misturados com 5 mL de ácido tricloroacético a 25%), filtrada em papel-filtro e armazenada a  $-15^{\circ}\text{C}$  para posterior análise de alantoína. A produção de leite (PL) corrigida para 3,5% de gordura (PLC) foi calculada segundo Sklan et al. (1992), pela seguinte fórmula:  $\text{PLC} = (0,432 + 0,1625 \times \% \text{ gordura do leite}) \times \text{produção de leite em kg/dia}$ .

No sétimo dia de adaptação e no final de cada período experimental foram feitas pesagens individuais dos animais para avaliar a variação de peso. O peso dos animais correspondeu à média de duas pesagens, feitas antes do fornecimento da alimentação e após a ordenha.

Amostras de sangue foram coletadas no 18<sup>o</sup> dia por punção da veia coccígea, utilizando tubos de ensaio com anticoagulante (EDTA). Imediatamente, foram centrifugadas a  $2.700 \times g$  por 20 minutos sendo então retiradas amostras de plasma que foram acondicionadas em tubos ependorf e congeladas a  $-15^{\circ}\text{C}$  para posteriores análises de concentração de nitrogênio uréico. Uma segunda amostra de sangue foi coletada utilizando-se tubos contendo fluoreto de sódio, que após a coleta foram homogeneizados lentamente, armazenados em caixa de isopor com gelo moído e imediatamente enviados ao laboratório, para realização de análise de glicose.

Amostras *spot* de urina foram obtidas de todas as vacas no 17<sup>o</sup> dia de cada período experimental, durante micção estimulada por massagem na vulva, em dois horários: na parte da manhã e na parte da tarde após a alimentação. A urina foi filtrada em gaze e desta foi retirada uma alíquota composta de urina concentrada (50 mL), para análise de nitrogênio total e outra alíquota composta de 10 mL, diluídas imediatamente em 40 mL de ácido sulfúrico a 0,072 N, e armazenadas a  $-15^{\circ}\text{C}$  para posteriores análises de uréia,

alantoína (AL), ácido úrico (AU) e creatinina. Imediatamente antes das análises, as amostras de urina foram descongeladas e centrifugadas a 2.000 x g por 15 minutos.

As análises de AL na urina e no leite foram feitas pelo método colorimétrico, conforme descrito por Chen & Gomes (1992). As análises de uréia foram realizadas por meio de sistema enzimático-colorimétrico pelo método urease, utilizando-se *kits* comerciais (Labtest Diagnóstica S.A.). As análises de ácido úrico na urina foram realizadas por meio do método enzimático-Trinder, utilizando-se *kits* comerciais (Labtest Diagnóstica S.A.) As análises de creatinina na urina foram realizadas por meio do método de ponto final com picrato e acidificante, utilizando-se *kits* comerciais (Labtest Diagnóstica S.A.).

O volume urinário total diário foi estimado dividindo-se as excreções urinárias diárias de creatinina pelos valores observados de concentração de creatinina na urina (Valadares Filho & Valadares, 2001). A excreção urinária diária de creatinina foi estimada a partir da proposição de 24,05 mg/kg de peso vivo (PV) de creatinina (Chizzotti et al., 2008).

A excreção total de derivados de purina (PT) foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretados na urina e da quantidade de alantoína excretada no leite. As purinas absorvidas (PA, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de PT (PT, mmol/dia), por meio da equação  $PA = (PT - 0,512 * PV^{0,75}) / 0,85$ , em que 0,85 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados de purinas (Verbic et al., 1990) e  $0,512 * PV^{0,75}$  a contribuição endógena para excreção de purinas obtida para vacas leiteiras (Gonzalez-Ronquillo et al., 2003).

A síntese de compostos nitrogenados microbianos no rúmen (Nmic, g/dia) foi calculada em função das PA (mmol/dia), por meio da equação  $Nmic = (70 * PA) / (0,83 * 0,116 * 1000)$ , em que 70 representa o conteúdo de N nas purinas (mg N/mmol);

0,83, a digestibilidade das purinas microbianas e 0,116, a relação N-purina:N total nas bactérias (Chen & Gomes, 1992).

O balanço de compostos nitrogenados (BN) foi obtido pela diferença entre o total de nitrogênio ingerido (N<sub>ing</sub>) e o total de nitrogênio excretado nas fezes (N-fezes), na urina (N-urina) e no leite (N-leite). A avaliação do nitrogênio total nas fezes e na urina foi feita segundo técnica descrita em Silva & Queiroz (2002).

A orçamentação parcial relacionada ao custo da alimentação (X) e ao retorno com a venda do leite (Y) foi realizada através das relações retorno absoluto (Y-X) e retorno relativo (Y)/(X), em que X foi obtido pela multiplicação do valor por kg de matéria seca da dieta (A) pelo consumo de matéria seca em kg por dia (B). Enquanto que Y foi calculado multiplicando-se o valor por litro de leite (C) pela produção de leite em kg por dia (D).

As variáveis foram analisadas segundo o modelo estatístico:

$$Y_{ijkl} = \mu + Q_i + T_j + (P/Q)_{ik} + (V/Q)_{il} + Q \times T_{ij} + e_{ijkl}, \text{ sendo:}$$

$Y_{ijkl}$  = observação na vaca 1, no período k, submetida ao tratamento j, no quadrado latino i;

$\mu$  = constante geral;

$Q_i$  = efeito do quadrado latino i, sendo  $i = 1, 2$  e  $3$ ;

$T_j$  = efeito do tratamento j, sendo  $j = 1, 2, 3$  e  $4$ ;

$(P/Q)_{ik}$  = efeito do período k, dentro do quadrado latino i, sendo  $k = 1, 2, 3$  e  $4$ ;

$(V/Q)_{il}$  = efeito da vaca 1, dentro do quadrado latino i, sendo  $l = 1, 2$  e  $3$ ;

$Q \times T_{ij}$  = efeito de interação entre o quadrado latino i e o tratamento j; e

$e_{ijkl}$  = erro aleatório, associado a cada observação, pressuposto NID  $(0; \sigma^2)$ .

Os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o procedimento GLM do programa *Statistical Analysis System* (SAS, 1989). Posteriormente, utilizou-se

o teste de Williams (Williams, 1971), específico para comparações de médias de natureza quantitativa, utilizando nível de 5% de probabilidade para o erro tipo I.

## Resultados e Discussão

O consumo de MS foi reduzido ( $P < 0,05$ ) a partir de 33,3% de substituição de MG por GB na dieta. Os consumos de MO, PB, FDN, FDNcp e FDAi seguiram a mesma tendência, reduzindo ( $P < 0,05$ ) a partir de 33,3% de substituição, possivelmente, devido à redução do consumo de MS e da redução do teor fibra na dieta (Tabela 4). O consumo de EE aumentou ( $P < 0,05$ ) a partir do nível de 66% de substituição, comportamento que pode ser atribuído ao fato de que o teor dietético total de EE aumentou à medida que se elevou o nível de GB da dieta (Tabela 3). Todavia não houve efeito significativo ( $P > 0,05$ ) para o consumo de CNF.

Consumo de MS, FDN e FDNcp, expressos em g/kg de peso corporal, apresentaram redução a partir do nível de 33,3% de inclusão de GB em substituição ao MG nas dietas, acompanhando a tendência observada para o consumo em kg/dia (Tabela 4).

Neste contexto, pode-se dizer que, apesar da boa aceitação da GB pelos animais, a redução no consumo de MS pode estar associado ao teor de impurezas contido na GB. Dentre esses contaminantes, pode-se destacar o metanol, que na GB utilizada neste trabalho girou em torno de 8%, sendo que níveis elevados de metanol são de particular preocupação, devendo seu teor na glicerina bruta ser inferior a 0,5% (Donkin & Doane, 2007).

A redução do consumo pode ser ainda uma resposta metabólica decorrente do aumento da produção e absorção de propionato produzido durante a fermentação do glicerol no rúmen (Rémind et al., 1993, Bergner et al., 1995). Estudos indicam que o aumento da produção e absorção de propionato no rúmen, pode estar relacionado à depressão no consumo de ração em ruminantes (Allen & Bradford, 2009), confrontando a hipótese de que a ingestão de alimentos é regulada para atender às exigências de

energia (NRC, 2001). Evidências empíricas para o *feedback* metabólico mostra que o potencial produtivo do animal, que afeta sua capacidade de utilizar os nutrientes, interage com o equilíbrio dos nutrientes absorvidos para regular o consumo (Illius & Jessop, 1996). Todavia esse efeito de redução do consumo não foi verificado quando o glicerol foi incluído em substituição ao milho grão em dietas de vacas em lactação nos níveis 3,6% e 15% da MS (Khalil et al., 1997 e Donkin & Doane, 2007), respectivamente.

Tabela 4 – Consumos diários de constituintes em função do nível de glicerina bruta na dieta

Item <sup>1</sup>	Substituição do milho grão pela GB (% da MS)				CV <sup>2</sup> (%)	Efeito valor-p
	0	33,3	66,6	100		
Consumo kg						
CMS	21,58	20,53*	20,41	20,29	6,3	0,018
CMO	20,39	19,30*	19,09	18,88	6,3	0,007
CEE	0,67	0,68	0,71*	0,75	6,9	0,002
CPB	3,61	3,46*	3,45	3,46	6,3	0,034
CFDN	8,24	7,40*	7,01	6,68	7,4	<,001
CFDNcp	7,60	6,80*	6,42	6,03	8,0	<,001
CCNF	8,49	8,39	8,57	8,85	6,4	0,266
CFDAi	1,67	1,57*	1,53	1,52	6,9	0,013
Consumo g/kg peso corporal						
CMS	36,56	34,85*	34,86	34,51	5,7	0,044
CFDN	13,95	12,56*	11,95	11,35	6,9	<,001
CFDNcp	12,88	11,55*	10,96	10,22	7,6	<,001

Médias seguidas por (\*) indicam o nível de inclusão a partir do qual se observa diferença em relação ao tratamento controle (nível zero) pelo teste de Williams (P<0,05).

<sup>1</sup> MS = Matéria seca; MO = Matéria orgânica; PB = Proteína bruta; EE = Extrato etéreo; FDN = Fibra em detergente neutro; FDNcp = Fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; CNF = Carboidratos não-fibrosos; FDAi = Fibra em detergente ácido indigestível. <sup>2</sup> Coeficiente de variação.

Apesar da digestibilidade da MS, MO, PB, CNF e o teor de NDT (% da MS) terem aumentado ( $P < 0,05$ ) a partir de 66,6% de substituição do MG pela GB, os consumos de MS, MO digeridos e de NDT não foram influenciados significativamente ( $P > 0,05$ ) pela substituição do MG por GB nas dietas. A digestibilidade do EE aumentou significativamente ( $P < 0,05$ ) a partir do nível de 33,3% de substituição, influenciando o consumo de EE digestível, que aumentou ( $P < 0,05$ ) a partir do mesmo nível. Enquanto que o consumo de componentes digeridos da PB reduziu ( $P < 0,05$ ) a partir do nível de 33,3% de substituição do MG pela GB da dieta (Tabela 5).

Embora sem haver significância ( $P > 0,05$ ) da digestibilidade do FDNcp, em termos absolutos, observa-se uma redução de 6,20 unidades percentuais no nível de 100% de substituição do MG pela GB em relação ao nível zero, que pode estar relacionado com a redução significativa ( $P < 0,05$ ) do consumo de componentes digeridos do FDNcp a partir de 33,3% de substituição (Tabela 5).

O menor consumo de componentes digeridos apresentado pela FDNcp pode ser atribuído ao aumento da proporção de CNF na dieta e ao menor tempo de permanência da digesta no ambiente ruminal, visto que a degradação da FDNcp é lenta e altamente influenciada pelo tempo de contato com as enzimas bacterianas.

A redução do teor de fibra decorrente da inclusão de GB nas dietas e conseqüente aumento do CNF (Tabela 3) podem estar relacionados com o maior teor de NDT (% da MS) com o aumento da GB, embora o consumo do NDT não ter se apresentado significativo ( $P > 0,05$ ) com a inclusão de GB nas dietas.

Neste contexto, pode-se dizer que o consumo de energia pelos animais se manteve constante, corroborando com os estudos de Schröder & Südekum (1999), que utilizaram 10% glicerol em base da MS na alimentação de gado leiteiro, substituindo efetivamente mais da metade do amido na dieta, sem comprometer ou afetar o consumo

e a digestibilidade ruminal, síntese microbiana ruminal e digestibilidade total dos nutrientes em novilhos.

Tabela 5 – Coeficientes de digestibilidade total, teores de nutrientes digestíveis totais (NDT) e consumo de componentes digeridos em função dos níveis de substituição de milho grão pela glicerina bruta com 85% de glicerol nas dietas

Itens	Substituição do milho grão pela GB (% da MS)				CV% <sup>1</sup>	Efeito valor-p
	0	33,3	66,6	100		
	%					
CDMS	61,00	62,05	63,93*	66,51	3,5	<,001
CDMO	62,37	63,39	65,12*	67,54	3,5	<,001
CDEE	42,64	59,55*	67,71	78,96	27,9	0,008
CDPB	65,94	65,84	68,82*	72,10	3,7	<,001
CDFDNcp	48,07	45,95	43,36	41,87	12	0,144
CDCNF	75,35	76,99	79,93*	82,45	3,8	<,001
NDT(% da MS)	60,80	62,39	64,24*	66,81	4,7	0,001
	kg/dia					
CMSD	13,15	12,68	13,06	13,78	6,4	0,050
CMOD	12,70	12,17	12,44	12,02	6,4	0,141
CPBD	2,37	2,27*	2,37	2,54	5,5	0,002
CEED	0,28	0,41*	0,48	0,60	26,8	<,001
CFDNcpD	3,62	3,09*	2,81	2,60	15	0,003
CCNFD	6,46	6,42	6,85*	7,31	7,6	0,004
CNDT	13,11	12,74	13,12	13,83	6,9	0,070

Médias seguidas por (\*) indicam o nível de inclusão a partir do qual se observa diferença em relação ao tratamento controle (nível zero) pelo teste de Williams (P<0,05).

<sup>1</sup> Coeficiente de variação.

A falta de significância (P>0,10) para os valores energéticos estimados em dietas de vacas lactantes recebendo até 15% de glicerol (99,5% de glicerol) em substituição ao milho grão é reportada por Donkin & Doane (2007). Estes resultados indicam que o

milho pode ser substituído por glicerol sem ajustes para o teor de energia, embora, o valor energético do glicerol bruto seja susceptível de ser menor do que o glicerol puro e deve ser ajustado para o conteúdo energético de impurezas.

A adição de fontes lipídicas em dietas de ruminantes pode acarretar em redução no consumo de MS (Vargas et al., 2002). No entanto, o aumento do teor de EE nas dietas decorrentes da elevação dos níveis de GB, bem como o aumento do consumo de EE digestível ( $P < 0,05$ ) não influenciou o nível energético das dietas, assim como reportado por Osborne et al. (2009), que não encontraram efeito significativo da suplementação energética sobre o consumo de energia de vacas leiteiras.

Na Tabela 6 encontram-se os valores observados e exigências diárias de proteína e energia para vacas lactantes com peso corporal médio de 600 kg, produção média diária de 30 kg/dia, com 3,5% de gordura e com 24 semanas de lactação, segundo o NRC (2001).

Tabela 6 – Valores observados e exigências de proteína bruta (PB) e nutrientes digestíveis totais (NDT) segundo o NRC (2001), de vacas lactantes com 600 kg de peso corporal, com 24 semanas de lactação, produzindo 30 kg/dia com 3,5% de gordura

Itens	Exigências	Substituição do milho grão pela GB (% da MS) <sup>1</sup>			
		0	33,3	66,6	100
PB (kg/dia)	3,30	3,61	3,46	3,45	3,46
Diferença		0,31	0,16	0,15	0,16
NDT (kg/dia)	12,50	13,11	12,74	13,12	13,83
Diferença		0,61	0,24	0,62	1,33

<sup>1</sup>GB = glicerina bruta (84 % glicerol).

Os consumos de PB e NDT foram suficientes para atender as exigências em todos os tratamentos, podendo-se considerar que a redução na produção de leite

ocorrida no presente experimento, não foi causada por uma deficiência energética para os animais.

A produção de leite (PL) e PL corrigida para 3,5% de gordura (PLC) apresentaram redução ( $P < 0,05$ ) a partir do nível de 66,6% de substituição do MG pela GB, enquanto que não houve efeito ( $P > 0,05$ ) dos níveis de GB nas dietas sobre a composição do leite, relação entre o teor de proteína e gordura do leite e eficiência alimentar dos animais (Tabela 7).

Tabela 7 – Produção de leite, composição do leite e eficiência na produção em função do nível de substituição do milho grão por glicerina bruta na dieta

Item	Substituição do MG pela GB (% da MS) <sup>2</sup>				CV <sup>2</sup> (%)	Efeito valor-p
	0	33,3	66,7	100		
Leite (kg/d)	31,14	29,77	28,42*	28,14	7,3	0,017
Leite com 3,5% gordura (kg/d)	31,05	31,09	29,40*	27,97	9,1	0,045
Lactose (%)	4,09	4,08	4,00	4,05	4,1	0,469
Proteína bruta (%)	3,14	3,21	3,24	3,22	5	0,552
Gordura (%)	3,55	3,86	3,84	3,49	11	0,089
Proteína:gordura	0,90	0,86	0,86	0,92	10,6	0,278
Extrato seco total (%)	11,92	12,29	12,23	11,93	3,3	0,091
Extrato seco desengordurado (%)	8,36	8,43	8,39	8,44	2,9	0,961
PLC/CMS <sup>1</sup>	1,46	1,52	1,50	1,37	12,4	0,168

Médias seguidas por (\*) indicam o nível de inclusão a partir do qual se observa diferença em relação ao tratamento controle (nível zero) pelo teste de Williams ( $P < 0,05$ ); <sup>1</sup> Produção diária de leite com 3,5% de gordura/consumo diário de MS. <sup>2</sup> MG = milho grão, GB = glicerina bruta (84% de glicerol); Coeficiente de variação (CV).

Um fato que pode explicar a redução na produção de leite é o elevado teor de impurezas encontrado na GB utilizada, causando diminuição da síntese de N microbiano ruminal, o que levou à redução do fluxo de aminoácidos para a glândula mamária, culminando na redução da produção de leite.

A redução na síntese de N microbiano ruminal pode ter contribuído para redução da produção, por ocasionar reduções no fluxo de aminoácidos na glândula mamária. A proteína  $\alpha$ -lactoalbumina, sintetizada na glândula mamária a partir de aminoácidos livres absorvidos na circulação sanguínea, apresenta papel essencial na atuação catalítica do complexo enzimático lactose sintase (Fonseca, 1995). Neste sentido, reduções no fluxo de aminoácidos de origem microbiana possivelmente reduziriam a síntese de componentes do leite na glândula mamária (Gennadij et al., 2000)

Donkin & Doane (2007), não encontraram efeito significativo ( $P>0,10$ ) na produção e composição do leite, em vacas alimentadas com níveis de até 15% de glicerol em base da MS, adicionado em substituição ao MG nas dietas. Trabalhos onde menores níveis de inclusão de glicerol ( $<10\%$  na MS) foram utilizados também não encontraram diferença significativa sobre a produção de leite (Khalil et al., 1997, DeFrain et al., 2004 e Al Bodarski et al., 2005). Todavia, foram utilizados baixos níveis de inclusão de glicerol no desenvolvimento desses trabalhos, e o glicerol utilizado se apresentava na forma pura (99,5% de glicerol), diferindo da GB (84% de glicerol) utilizada no presente trabalho.

Não houve efeito sobre a variação de peso corporal, apresentando valores médios de 0,68, 0,38, 0,70 e 0,47 kg/dia, para as proporções de 0%, 33,3%, 66,6% e 100% de substituição do MG pela GB, respectivamente.

Na Tabela 8 são apresentadas a síntese e eficiência de síntese de nitrogênio microbiano ruminal ( $N_{mic}$ ) em função dos níveis de substituição do MG por GB. Ocorreu redução significativa ( $P<0,05$ ) para  $N_{mic}$  a partir do nível de 33,3% de substituição do MG pela GB. Este comportamento possivelmente contribuiu para as reduções ( $P>0,05$ ) na produção de leite, pois a proteína bruta microbiana representa 50 a

80% dos aminoácidos absorvidos no intestino delgado em ruminantes (Storm & Ørskov, 1983).

A quantidade total de proteína microbiana no intestino delgado depende da disponibilidade de nutrientes e da eficiência de uso desses nutrientes pelas bactérias ruminais. Segundo Russel et al. (1992), variações na síntese microbiana são associadas a mudanças no suprimento de energia e proteína ao animal hospedeiro, sendo que o fornecimento de energia é o primeiro fator limitando o crescimento microbiano ruminal (Valadares Filho et al., 2010).

Apesar da substituição do MG pela GB não afetar a disponibilidade ruminal de proteína bruta, essa substituição pode ter ocasionado redução da disponibilidade de energia e de esqueletos de carbono para a síntese de PBmic nas dietas com maiores níveis de inclusão de glicerina. Segundo Krehbiel (2008), o glicerol pode tomar três destinos no rúmen, incluindo passagem (13%), fermentação (44%) e absorção (43%), sendo que, mais da metade do glicerol consumido não é fermentado no rúmen, desta forma haveria uma redução de substrato para a síntese microbiana nas dietas com glicerina quando comparado ao milho grão.

A eficiência microbiana é comumente medida pela eficiência de uso dos substratos energéticos e nitrogenados, os quais constituem em indicadores complementares (Bach et al., 2005). Observa-se que a substituição de MG pela GB reduziu significativamente ( $P < 0,05$ ) a eficiência de utilização de substratos energéticos pela microbiota ruminal (gPBmic/kg de NDT), a partir do nível de 33,3% de substituição. A eficiência energética é afetada pela quantidade de carboidratos degradados no rúmen, tipo de carboidratos, pH, taxa de passagem e disponibilidade sincronizada de substratos essenciais (N, S, P, etc).

A concentração de glicose sanguínea (mg/dL) não apresentou efeito significativo ( $P>0,05$ ) com a inclusão de GB (Tabela 8). Segundo Allen et al. (2005), o propionato é o principal precursor de glicose para os ruminantes, no entanto o possível aumento da produção de propionato decorrente da fermentação do glicerol, não influenciou significativamente ( $P>0,05$ ) os níveis de glicose sanguínea, podendo-se concluir assim, que os níveis energéticos das dietas se mantiveram constantes para os animais.

A concentração de nitrogênio uréico no plasma (NUP) expressa em mg/dL, não apresentou resposta significativa ( $P>0,05$ ) com a inclusão de GB nas dietas. Os níveis de concentração de nitrogênio no plasma acompanharam a tendência das demais variáveis relacionadas ao perfil de nutrição protéica, sendo que embora o coeficiente de digestibilidade da PB tenha aumentado significativamente ( $P<0,05$ ) enquanto que o consumo de PB digestível apresentou uma redução significativa ( $P<0,05$ ) em relação à inclusão de GB nas dietas (Tabela 5), os níveis de PB das dietas se mantiveram constante (Tabela 3). Porém, os valores de NUP encontram-se dentro da faixa considerada adequada de balanceamento de energia e proteína, de 10 a 17 mg/dL (Broderick, 1995; Moore & Varga, 1996; Jonker et al., 1998; Ferguson, 2001).

Verifica-se que o nitrogênio ingerido (Ningerido) em g/dia reduziu significativamente ( $P<0,05$ ) a partir do nível de 33,3% de substituição do MG pela GB na dieta. A excreção de nitrogênio expressa em nitrogênio nas fezes (Nfezes) e nitrogênio no leite (Nleite) em g/dia assim como a excreção de nitrogênio do leite em porcentagem do Ningerido apresentaram redução significativa ( $P<0,05$ ) a partir do nível de 66,6% de substituição, enquanto que excreção de nitrogênio na urina (Nurina) não apresentou efeito significativo ( $P>0,05$ ) com o aumento dos níveis de GB na dieta. Apesar das variações no Ningerido e nitrogênio excretado, o aumento do nível de

substituição de MG por GB na dieta não afetou significativamente ( $P>0,05$ ) o balanço de nitrogênio (BN) expresso em g/dia e porcentagem do Ningerido (Tabela 8).

Contudo, salienta-se que não ocorreu valor negativo médio para o BN em nenhuma das proporções de substituição do MG pela GB, indicando que o consumo de N permitiu atender as exigências de N dos animais.

Tabela 8 – Síntese e eficiência de síntese de nitrogênio microbiano ruminal (Nmic), teor de glicose sanguínea e indicadores de metabolismo de nitrogênio em função do nível de substituição do milho grão pela glicerina bruta na dieta

Item <sup>1</sup>	Substituição do milho grão pela GB (% da MS)				CV <sup>2</sup> (%)	Efeito valor-p
	0	33,3	66,6	100		
Nmic, g/dia	310,12	265,58*	271,81	270,94	19,7	0,040
gPBmic/kgNDT g/dia	145,90	125,82*	124,70	108,16	22,0	0,016
NUP, mg/dL	17,07	15,54	14,85	15,16	11,3	0,099
Glicose Sanguínea mg/dL	60,27	57,41	54,08	58,00	14,9	0,129
Ningerido, g/dia	579,06	553,88*	553,37	554,57	6,3	0,034
Nurina g/dia	173,60	195,89	200,03	219,80	22,5	0,459
Nleite, g/dia	153,06	147,82	139,48*	145,37	6,1	<,001
Nfezes, g/dia	190,69	192,24	169,46*	151,30	11,0	0,001
BN, g/dia	61,08	17,92	46,80	43,59	30,3	0,281
BN/Ningerido %	10,06	3,06	8,63	7,38	6,7	0,278
Nleite/Ningerido %	26,35	26,82	25,18*	25,86	6,49	0,028

Médias seguidas por (\*) indicam o nível de substituição a partir do qual se observa diferença em relação ao tratamento controle pelo teste de Williams ( $P<0,05$ ); <sup>1</sup>PBmic = síntese de proteína bruta microbiana ruminal, NUP = concentração de nitrogênio-uréico no plasma, Ningerido = nitrogênio total ingerido, Nurina = nitrogênio total excretado na urina, Nleite = nitrogênio total excretado no leite, Nfezes = nitrogênio total excretado nas fezes, BN = balanço de nitrogênio; <sup>2</sup>CV = coeficiente de variação.

Os resultados deste estudo indicam claramente que GB é um ingrediente valioso para a alimentação de vacas leiteiras em lactação. A GB pode ser incluída como um macro ingrediente em dietas para vacas em lactação, e apesar de influenciar o consumo e produção de leite a inclusão do GB em substituição ao milho é uma estratégia

alternativa para formulação de dietas para vacas lactantes quando o milho não possui um preço favorável.

Na Tabela 9 são apresentados dados de uma orçamentação parcial da produção de leite em função dos níveis de substituição do MG pela GB nas dietas, onde são levados em consideração apenas gastos com alimentação, e receita provinda da venda de leite. Nessa demonstração foram usados dados de consumo e produção do presente experimento e valores médios de mercado. Os preços dos ingredientes em reais por kg (R\$/kg) foram: 0,10; 0,33; 0,30; 0,57; 0,28; 1,30; 1,20; e 0,90 para silagem de milho, milho grão, glicerina bruta, farelo de soja, farelo de trigo, glúten de milho, uréia e mistura mineral, respectivamente.

Tabela 9 – Orçamentação parcial da produção de leite em função dos níveis de substituição do milho grão pela GB na dieta

Item	Níveis de substituição de milho por glicerina bruta (% da MS)			
	0%	33%	66%	100%
R\$/kg de MS	0,43	0,43	0,44	0,44
Consumo de MS kg/dia	21,58	20,53	20,41	20,29
Gasto com alimentação	9,17	8,83	8,89	8,94
R\$/litro de leite	0,60	0,60	0,60	0,60
Produção de Leite L/dia	31,14	29,77	28,42	28,14
Ganho R\$/dia	18,68	17,86	17,05	16,88
Retorno absoluto	9,51	9,03	8,16	7,95
Retorno relativo	2,04	2,02	1,92	1,89
Ret. Relativo GB = R\$ 0,18 <sup>1</sup>	2,04	2,07	2,00	2,02

<sup>1</sup>Retorno relativo com o preço da glicerina bruta a R\$ 0,18/kg.

O retorno relativo, encontrado dividindo-se o ganho por dia pelo gasto com alimentação pode ser considerado constante até o nível de 33% de substituição do MG pela GB na dieta, sendo que ocorreu uma diminuição de apenas R\$0,02. No entanto,

fazendo-se uma simulação com o preço da GB a R\$ 0,18/kg, encontramos um valor constante para o retorno relativo para todos os níveis de substituição do MG pela GB.

O aumento da produção de biodiesel, resultando na oferta de GB, combinada com a concorrência pela utilização do milho por outras espécies animais, pode justificar o uso de GB na alimentação de gado. Embora existam questões em relação à composição da GB, sua utilização pode se tornar viável em até 33,3% de inclusão em substituição ao MG com base na MS. Devendo-se tomar cuidado com os níveis de metanol contidos na GB, que podem ser prejudiciais a saúde dos animais.

As especulações de crescimento da cadeia produtiva de biodiesel, com conseqüente aumento da disponibilidade de glicerina no mercado indicam que apesar dos resultados encontrados terem demonstrado redução da produção de leite, a indicação ou não do uso da GB em substituição ao milho, deve passa por uma análise econômica.

## **Conclusões**

A glicerina bruta (84 % de glicerol) pode substituir até 33,3% o milho grão de dietas de vacas leiteiras com produção média de 30kg de leite por dia, o que representaria em torno de 1,4kg de glicerina por dia.

## Literatura Citada

- ABUGHAZALEH, A.A.; EL-NOR, S.A.; BABU, R. The effect of replacing corn with glycerol on rumen fermentation and fiber digestibility. **Journal of Animal Science**, v.86, E-Suppl.2, p.474, 2008.
- ALLEN, M. S., BRADFORD, B. J. Metabolic regulation of feed intake in cattle: a conceptual model. **Journal of Animal Science**. 87: 3317-3334, 2009.
- ALLEN, M. S., BRADFORD, B. J., HARVATINE, K. J. The cow as a model to study food intake regulation. **Annual Reviews of Nutrition**. 25:523-547, 2005.
- BERGNER, H., KIJORA, C., CERESNAKOVA, Z. SZAKACS, J. 1995. In vitro studies on glycerol transformation by rumen microorganisms. **Arch. Tierernahr**. 48:245-256, 1995
- AL BODARSKI, R., WERTELECKI, T. BOMMER, F., GOSIEWSKI, S. 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, Animal Husbandry**, 8:1- 9, 2005
- BRODERICK, G.A. Use of milk urea as an indicator of nitrogen utilization in lactating dairy cows. USDA. Agriculture Research Service. US Dairy Forage Research Center, 1995. **Research Summaries**, 122p.
- CARVALHO, G. R. Leite: Por que olhar para o Brasil? In: MilkPoint. 2007. Disponível em: [www. http://milhpoint.com.br](http://milhpoint.com.br).
- CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. 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.
- CHEN, X.B.; GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of technical details. **INTERNATIONAL FEED RESEARCH UNIT**. Rowett Research Institute. Aberdeen, UK. (occasional publication). 1992. 21p.
- CHIZZOTTI, M.L., VALADARES FILHO, S.C., VALADARES, R.F.D. et al. Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. **Livestock Science**, v.113, p.218-225. 2008.

- CHIZZOTTI, M.L., VALADARES FILHO, S.C., VALADARES, R.F.D. et al. Consumo, digestibilidade e excreção de uréia e derivados de purinas em vacas de diferentes níveis de produção de leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.36, n.1, p.138-146, 2007
- DEFRAIN, J.M.; HIPPEN, A.R.; KALSCHEUR, K.F. et al. Feeding glycerol to transition dairy cows: Effects on blood metabolites and lactation performance. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.4195-4206, 2004.
- DONKIN, S.S.; DOANE, P. **Glycerol as a feed ingredient in dairy rations**. In: Tri-State Dairy Conference, p.97-103, 2007. Disponível em: [www.http://tristatedairy.osu.edu/proceedings.htm](http://tristatedairy.osu.edu/proceedings.htm).
- DROUILLARD, J.S. Glycerin as a feed for ruminants: using glycerin in high-concentrate diets. **Journal of Animal Science**, v.86, E-Suppl.2, p.392, 2008.
- FERGUSON, J.D. Milk urea nitrogen. **Center for Animal Health and Productivity**, 2001, [http://cahpwww.vet.upenn.edu/mun/mun\\_info.html](http://cahpwww.vet.upenn.edu/mun/mun_info.html) (10-01-2009).
- FISHER, L.J.; ERFLE, J.D.; LODGE, G.A. et al. Effects of propylene glycol or glycerol supplementation of the diet of dairy cows on feed intake, milk yield and composition, and incidence of ketosis. **Canadian Journal of Animal Science**, v.53, p.289–296, 1973.
- FISHER, L.J.; ERFLE, J.D.; SAUER, F.D. Preliminary evaluation of the addition of glucogenic materials to the rations of lactating cows. **Canadian Journal of Animal Science**, v.51, p.721–727, 1971.
- FONSECA, F. A. Fisiologia da Lactação. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Zootecnia. Viçosa-MG: UFV. 1995. 137p.
- GENNADIJ, C. C.; DANFAER, A.; CANT, J.P. Simulation analysis of substrate utilization in the mammary gland of lactating cows. **Journal of Dairy Research**, n.67, p171-188,2000.
- GONÇALVES, V.L.C.; PINTO, B.P.; MUSGUEIRA, L.C. et al. Biogasolina: Produção de ésteres da glicerina. In: I Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel, 2006, Brasília. **Anais...** Brasília: MCT/ABIPTI, 2006. v.2. p.14 -19.
- GONZÁLEZ-RONQUILLO, M.; BALCELLS, J.; GUADA, J.A.; et al. Purine derivative excretion in dairy cows: Endogenous excretion and the effect of exogenous nucleic acid supply. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.4, p.1282-1291, 2003.
- HALL, M.B. Calculation of non-structural carbohydrate content of feeds that contain non-protein nitrogen. **University of Florida**, 2000. P.A-25 (Bulletin 339, April-2000).

- HESS, B.W.; LAKE, S.L.; GUNTER, S.A. Using glycerin as a supplement for forage-fed ruminants. **Journal of Animal Science**, v.86, E-Suppl.2, p.392-393, 2008.
- IDF – INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Whole milk. Determination of milkfat, protein and lactose content Guide for the operation of mid-infra-red instruments**. Bruxelles: 1996. 12p. (IDF Standard 141 B).
- ILLIUS, A. W. and JESSOP, N. S. Metabolic constraints on voluntary intake in ruminants. **Journal of Animal Science**. 74: 3052-3062, 1996.
- JOHNSON, M.M.; PETERS, J.P. Technical Note: An improved method to quantify nonesterified fatty acids in bovine plasma. **Journal of Dairy Science**, v.71, p.753-756, 1993.
- JOHNSON, R.B. The treatment of ketosis with glycerol and propylene glycol. **Cornell Vet**. v.44, p.6–21, 1954.
- JONKER, J.S.; KOHN, R.A.; ERDMAM, R.A. Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.2681-2692, 1998.
- KHALILI, H., VARVIKKO, T., TOIVONEM, V., HISSA, K., SUVITIE, M. The effects of added glycerol or unprotected free fatty acids or a combination of the two on silage intake, milk production, rumen fermentation and diet digestibility in cows given grass silage based diets. **Agriculture and Food Science**. Finland. 6:349–362, 1997.
- KREHBIEL, C.R. Ruminant and physiological metabolism of glycerin. Symposium: Ruminant Nutrition: Glycerin as a Feed for Ruminants, **Journal of Animal Science**. Vol. 86, p-392, 2008.
- LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; VAN SOEST, P.J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.57, n.4, p.347-358, 1996.
- LIN, E. C. C. Glycerol utilization and its regulation in mammals. *Annu. Rev. Biochem.* 46:765–795, 1977.
- MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beaker or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.85, p.1217-1240, 2002.
- MOORE, D.A.; VARGA, G. BUN and MUN: Urea nitrogen testing in dairy cattle. **Compendium Continuing Education Veterinary**, v.18, n.6, p.712-721, 1996.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washington, DC: National Academy Press, 2001. 381p

- OSBORNE, V. R., OGONGO, N. E., CANT, J. P. SWANSON, K. C. McBRIDE. Effects of supplementing glycerol and soybean oil in drinking water on feed and water intake, energy balance, and production performance of periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, 92: 698-707, 2009
- RÉMIND, B., SOUDAYR, E., JOUANY, J. P. In vitro and in vivo fermentation of glycerol by rumen microbes. **Animal Feed Science Technol.** 41:121–132, 1993
- RUSSELL, J. P., O’CONNOR, C. D., FOX, D. G. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. I. Ruminant fermentation. **Journal of Animal Science**. 70: 3562-3577, 1992.
- SCHRÖDER, A., SÜDEKUM, K. H. Glycerol as a by-product of biodiesel production in diets for ruminants. In *New Horizons for an Old Crop*. Proc. 10th Int. **Rapeseed Congre.**, Canberra, Australia. N. Wratten and P. A. Salisbury, ed.241: 26–29, 1999
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Viçosa: UFV, 2002. 235p.
- SKLAN, D.; ASHKENAZI, R.; BRAUN, A. et al. Fatty acids, calcium soaps of fatty acids and cottonseeds fed to high yielding cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.2463-2472, 1992.
- SNIFFEN, C.J., O’CONNOR J.D., VAN SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, n.12, p.3562-3577, 1992.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. **SAS/STAT user’s guide**. v.2, 4.ed. Cary: 1989. 846p.
- STORM, E.; ØRSKOV, E. R. The nutritive value of rumen microorganisms in ruminant. 1. Large-scale isolation and chemical composition of rumen microorganisms. **British Journal of Nutrition**, v.50, p. 463-470, 1983.
- VARGAS, L. H., LANA, R. P., JHAM, G. N. et al. Adição de lipídios na ração de vacas leiteiras: parâmetros fermentativos ruminais, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, V.31, n.1, p.522-529, 2002.
- VALADARES FILHO, S.C.; et al.. **Exigências nutricionais de zebuínos puros e cruzados BR-CORTE**. 2.ed. – Viçosa : UFV, DZO, 2010, 30-31p.
- VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.D.F. Recentes avanços em proteína na nutrição de vacas leiteiras. In: II SINLEITE – SIMPÓSIO INTERNACIONAL: NOVOS CONCEITOS EM NUTRIÇÃO. Lavras. **Anais...** p.229-247, 2001.

- VERBIC, J.; CHEN, X.B.; MACLEOD, N.A. et al. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal Agriculture Science**, v.114, n.3, p.243-248, 1990.
- WEISS, W.P Energy prediction equations for ruminant feeds. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 61., 1999. Proceeding... Ithaca: Cornell University, p. 176-185. 1999.
- WILLIAMS, D.A. A test for differences between treatment means when several dose levels are compared with a zero dose control. **Biometrics**, v.27, p.103-117, 1971.