

JOÃO PAULO ISMÉRIO DOS SANTOS MONNERAT

**AVALIAÇÃO NUTRICIONAL, DESEMPENHO E QUALIDADE DA CARNE DE
BOVINOS DE CORTE ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO GLICERINA
BRUTA**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2012

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

M748a
2012

Monnerat, João Paulo Ismério dos Santos, 1984-
Avaliação nutricional, desempenho e qualidade da carne de
bovinos de corte alimentados com dietas contendo glicerina
bruta / João Paulo Ismério dos Santos Monnerat. – Viçosa,
MG, 2012.
xv, 139f. : il. ; 29cm.

Inclui apêndice.

Texto em português e inglês

Orientador: Pedro Viegas Rodrigues Paulino

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Bovino de corte - Alimentação e rações. 2. Glicerina.
3. Bovino de corte - Registros de desempenho. 4. Bovino de
corte - Metabolismo. 5. Carne - Qualidade. 6. Bovino de corte
- Produtividade. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 636.20852

JOÃO PAULO ISMÉRIO DOS SANTOS MONNERAT

AVALIAÇÃO NUTRICIONAL, DESEMPENHO E QUALIDADE DA CARNE DE
BOVINOS DE CORTE ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO GLICERINA
BRUTA

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

APROVADA: 28 de setembro de 2012.

Sebastião de Campos Valadares Filho
(Coorientador)

Mário Fonseca Paulino
(Coorientador)

Márcio Machado Ladeira

José Neuman Miranda Neiva

Pedro Veiga Rodrigues Paulino
(Orientador)

UM CONTO DE MARCELINO FREIRE

“Capim sabe ler? Escrever? Já viu cachorro letrado, científico? Já viu juízo de valor? Em quê? Não quero aprender, dispenso. Deixa pra gente que é moço. Gente que tem ainda vontade de doutorar. De falar bonito. De salvar vida de pobre. O pobre só precisa ser pobre. E mais nada precisa. Deixa eu, aqui no meu canto. Na boca do fogão é que fico. Tô bem. Já viu fogo ir atrás de sílaba?

O governo me dê o dinheiro da feira. O dente o presidente. E o vale-doce e o vale-lingüiça. Quero ser bem ignorante. Aprender com o vento, ta me entendendo? Demente como um mosquito. Na bosta ali, da cabrita. Que ninguém respeita mais a bosta do que eu. A química.

Tem coisa mais bonita? A geografia do rio mesmo seco, mesmo esculhambado? O risco da poeira? O pó da água? Hein?

O que eu vou fazer com essa cartilha? Número? Só para o prefeito dizer que valeu a pena o esforço? Tem esforço mais esforço que o meu esforço? Todo dia, há tanto tempo, nesse esquecimento. Acordando com o sol. Tem melhor bê-á-bá? Assoletrar se a chuva vem? Se não vem?

Morrer, já sei. Comer, também. De vez em quando, ir atrás de preá, caruá. Roer osso de tatu. Adivinhar quando a coceira é só uma coceira, não uma doença. Tenha santa paciência!

Será que eu preciso mesmo garranchear meu nome? Desenhar só pra mocinha aí ficar contente? Dona professora, que valia tem o meu nome numa folha de papel, me diga honestamente. Coisa mais sem vida é um nome assim, sem gente. Quem está atrás do nome não conta?

No papel, sou menos ninguém do que aqui, no Vale do Jequitinhonha. Pelo menos aqui todo mundo me conhece. Grita, apelida. Vem me chamar de Totonha. Quase não mudo de roupa, quase não mudo de lugar. Sou sempre a mesma pessoa. Que voa.

Para mim, a melhor sabedoria é olhar na cara da pessoa. No focinho de quem for. Não tenho medo de linguagem superior. Deus que me ensinou. Só quero que me deixem sozinha. Eu e minha língua, sim, que só passarinho entende, entende?

Não preciso ler, moça. A mocinha que aprenda. O doutor. O presidente é que precisa saber o que assinou. Eu é que não vou baixar minha cabeça para escrever. Ah, não vou!”

À minha querida e amada família que tanto me ajudou, apoiou, incentivou, razão do meu orgulho e da minha alegria de viver – minha mãe, Denize, meu pai, Zaga, minha irmã, Karina, e meus avós Manoel e Denir. E aos verdadeiros amigos pelo constante apoio e companheirismo, dedico.

“À Ju, minha referência na infância, de quem herdei os livros, me espelhei... E que não posso mais abraçar!”

AGRADECIMENTOS

À Deus.

Aos meus pais, Luiz Gonzaga e Denize, pelo amor, pela força, pelo incentivo, pela compreensão, pelo exemplo de caráter e honestidade e pela luta para que eu pudesse alcançar meus objetivos durante todos os momentos da minha vida. Sem vocês eu não conseguiria!

À minha irmã, Karina, pela amizade, paciência e pela certeza de poder contar sempre.

Aos demais familiares, especialmente vovó Denir e vovô Manoel, pelo carinho, preocupação e atenção.

Ao Prof. Pedro Veiga Rodrigues Paulino pela orientação, pela sua amizade, pelo apoio e pela grande contribuição na minha vida profissional.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial o Departamento de Zootecnia, pela oportunidade da formação profissional e realização deste curso.

A Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) pela concessão da bolsa de estudos.

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

À empresa Granol pela doação da glicerina bruta utilizada neste trabalho.

Ao Prof. Mário Fonseca Paulino pela confiança e oportunidade da iniciação científica, pelo exemplo profissionalismo e dedicação.

Ao Prof. Sebastião de Campos Valadares Filho, pelo valioso aconselhamento, pelos ensinamentos e pela presteza.

Aos Prof. Márcio Machado Ladeira e José Neuman Miranda Neiva por terem aceitado participar da minha banca de defesa e certeza que trariam sugestões valiosas para conclusão deste trabalho.

Ao Prof. Edenio Detmann pelas sugestões e críticas, pelo apoio, excelentes aulas e auxílio com a estatística.

À Prof. Maria Ignez Leão pela amizade, companheirismo, pela fistulação dos animais, pela atenção, carinho e companhia nos bons momentos da vida.

Aos demais professores da Universidade Federal de Viçosa que desde 2003 veem contribuindo com a minha formação profissional.

Ao Marcelo Cardoso, Zezé e Seu Jorge e demais todos os funcionários do Departamento de Zootecnia pelo auxílio fundamental na realização deste trabalho.

Ao Natanael, “Pum”, pela ajuda indispensável durante a realização dos experimentos, pelo agradável convívio e alegria.

Ao Joelcio, Jojô, que além da incansável presteza, atenção e inovações, tornou-se um amigo querido.

Aos funcionários Vanor e Divino pela ajuda durante o abate dos animais.

Aos estagiários e bolsistas de iniciação científica, Luiz, Cesinha, João Paulo, Priscila, Henrique Guella, Rogério Sushi, Carol Guerra, Natália, Jéssika, João Victor, Shina (Renato), Léo, Taiane, Lyvian, entre outros, pelo comprometimento, grande auxílio na condução experimental, pela amizade e agradável convivência.

Ao Felipe Sete Horas, Marcelo Grossi, Diego Zanetti e Jarbas que muito ajudaram, socorrendo, inclusive, nos momentos em que parecia que nada daria certo.

À Ivanna que dividiu, não só, os anos de graduação, mestrado e doutorado, mas pela vivência em todos os dias em que trabalhamos, aprendemos, ensinamos, discutimos, realizamos, brincamos, brigamos, divertimos e desenvolvermos nossos projetos em conjunto. Nos momentos mais felizes e mais difíceis.

Aos grandes amigos Analívia, Isis, Ivanna, Mozart e Rafael de quem tenho enorme orgulho de ter a amizade, por ter compartilhado a vida acadêmica, pela solidificação da mesma, preocupação, atenção e possibilidade de prolongar nosso agradável convívio durante toda a vida.

Aos meus amigos Marcio, Mateus, Simone Frotas, Emílio, Victor, Gustavo, Tadeu, Gabi Kishi, Camila (Camis), Bernardo, Nizio, Luiz, Pedrão, Fabiana Lana, Daiany, Karina Zorzi, Vivi e tantos outros. Muito obrigado pelo privilégio de ter a amizade, pelo incentivo e pela ajuda sempre bem vinda!

A todas as pessoas que direta e, ou, indiretamente contribuíram para realização desse trabalho e pela minha estada em Viçosa, para fazer desse sonho uma realidade, o meu MUITO OBRIGADO! Vocês serão lembrados com respeito carinho e saudade.

BIOGRAFIA

JOÃO PAULO ISMÉRIO DOS SANTOS MONNERAT, filho de Luiz Gonzaga Monnerat e Denize Ismério dos Santos Monnerat, nasceu em Cantagalo, Rio de Janeiro, em 05 de junho de 1984.

Iniciou o curso de graduação em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa - MG, em março de 2003, concluindo em agosto de 2007.

Em agosto de 2007, iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa, concentrando seus estudos na área de Nutrição de Ruminantes, submetendo-se à defesa de dissertação em 13 de fevereiro de 2009.

Em março de 2009 iniciou o curso de doutorado em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa, desenvolvendo estudos na área de Nutrição de Ruminantes. Através do Programa de estágio de Doutorado no Exterior (PDEE) da FAPEMIG, foi bolsista como pesquisador visitante na Oklahoma State University, em Stillwater, Oklahoma, Estados Unidos, no período de Outubro de 2011 a fevereiro de 2012.

Submeteu-se a defesa de tese em 28 de setembro de 2012.

ÍNDICE

<i>RESUMO</i>	x
<i>ABSTRACT</i>	xiii
<i>INTRODUÇÃO GERAL</i>	1
<i>LITERATURA CITADA</i>	11
Capítulo I	16
Composição bromatológica e predição do valor energético da glicerina bruta oriunda da indústria do biodiesel	16
<i>INTRODUÇÃO</i>	16
<i>MATERIAL E MÉTODOS</i>	17
<i>RESULTADOS E DISCUSSÃO</i>	21
<i>CONCLUSÃO</i>	24
<i>LITERATURA CITADA</i>	24
Capítulo II	26
Avaliação Nutricional de Bovinos de Corte em Terminação Alimentados com Glicerina Bruta na dieta	26
Nutritional Evaluation of Crude Glycerin to Finishing Cattle	27
<i>INTRODUÇÃO</i>	28
<i>MATERIAL E MÉTODOS</i>	29
<i>RESULTADOS</i>	38
<i>DISCUSSÃO</i>	46
<i>CONCLUSÃO</i>	55
<i>LITERATURA CITADA</i>	55
Capítulo III	63
Performance and carcass traits of finishing bulls fed crude glycerin	63
<i>ABSTRACT</i>	63
<i>INTRODUCTION</i>	64
<i>METHODS</i>	64
<i>RESULTS AND DISCUSSIONS</i>	70
<i>LITERATURE CITED</i>	80

Capítulo IV	85
Influências da inclusão da glicerina bruta sobre os parâmetros qualitativos da carne e carcaça bovina	85
<i>INTRODUÇÃO</i>	87
<i>MATERIAL E MÉTODOS</i>	88
<i>RESULTADOS E DISCUSSÃO</i>	96
<i>CONCLUSÃO</i>	109
<i>LITERATURA CITADA</i>	110
CONCLUSÕES FINAIS.....	116
APÊNDICE.....	117

RESUMO

MONNERAT, João Paulo Ismério dos Santos, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2012. **Avaliação nutricional, desempenho e qualidade da carne de bovinos de corte alimentados com dietas contendo glicerina bruta.** Orientador: Pedro Veiga Rodrigues Paulino. Coorientadores: Sebastião de Campos Valadares Filho e Mário Fonseca Paulino.

O presente trabalho foi desenvolvido a partir de três experimentos. O primeiro foi conduzido para caracterizar quimicamente os compostos presentes na glicerina bruta proveniente da indústria do biodiesel e determinar o seu valor energético em dietas para bovinos de corte. Para o ensaio de determinação do valor energético da glicerina foram utilizados oito bovinos, machos não castrados, mestiços e com peso inicial médio de $334 \pm 121,13$ kg. O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 2×2 com agrupamento de quatro quadrados simultâneos. Dentro de cada quadrado foram implementados duas proporções de glicerina e volumoso (5:95 e 15:85) e dois períodos experimentais. A glicerina apresentou $105,4 \text{ g.kg}^{-1}$ de umidade, $90,09 \text{ g.kg}^{-1}$ de matéria mineral, $805,5 \text{ g.kg}^{-1}$ de glicerol e 160 mg.kg^{-1} de metanol. Para os valores energéticos foram encontrados $934,46 \text{ g.kg}^{-1}$ e $4,01$ e $3,64 \text{ Mcal.kg}^{-1}$ para NDT, Energia digestível e metabolizável, respectivamente. No segundo experimento, utilizaram-se cinco bovinos mestiços (Nelore x Red Angus), não-castrados, com peso inicial médio de $346 \pm 21,42$ kg, fistulados no rúmen e no abomaso e distribuídos em um quadrado latino 5×5 , com objetivo de avaliar o efeito de inclusão da glicerina bruta em substituição ao milho em dietas de bovinos de corte terminados em confinamento, sobre o consumo, digestibilidade aparente total e parcial da matéria seca e dos nutrientes, cinética de passagem e digestão ruminal, pH, concentrações de amônia e ácidos graxos voláteis (AGV), estimativa da produção microbiana e excreção de compostos nitrogenados na urina. A alimentação basal foi composta por 50% de silagem de milho e o restante do concentrado à base de milho e farelo de soja. Os tratamentos consistiam de cinco níveis de substituição do milho do concentrado por uma mistura de glicerina e glúten de milho, em que a glicerina compunha 0, 5, 10, 15 e 20% da matéria seca da dieta. Foram utilizados cinco períodos experimentais com 15 dias cada, sendo sete para

adaptação e oito para coletas. Com exceção do consumo de EE, não houve efeito ($P > 0,05$) da glicerina sobre o consumo de MS e dos nutrientes. A inclusão de glicerina aumentou ($P < 0,05$) a digestibilidade da MS, MO, FDNcp, EE e CNF, resultando em aumento no NDT, ED e EM das dietas. A taxa de passagem da digesta ruminal não foi afetada ($P > 0,05$) pelos níveis de glicerina, mas a taxa de digestão da MS, MO e FDNcp aumentaram ($P < 0,05$). O pH e as concentrações dos AGV também não foram afetados ($P > 0,05$), no entanto, a concentração de amônia reduziu linearmente ($P < 0,05$) e a proporção de propionato aumentou ($P < 0,05$). Não foram observadas diferenças para síntese e eficiência microbiana e excreção de compostos nitrogenados na urina. Conclui-se que a glicerina bruta pode substituir o milho até 20% da MS em dietas de bovinos de corte. No terceiro experimento, foram elaborados dois estudos. No primeiro estudo, objetivou-se avaliar o efeito da substituição do milho pela glicerina bruta sobre o consumo e a digestibilidade aparente total da matéria seca (MS) e dos constituintes das dietas, o desempenho produtivo, as características de carcaça, o rendimento de cortes comerciais e a composição das carcaças de bovinos de corte sob regime de confinamento. Para isso, foram utilizados 34 bovinos, machos não castrados, mestiços (Nelore x Red Angus) com peso inicial médio de $343,9 \pm 16,56$. Quatro destes animais foram abatidos como referência no início do experimento e os demais ($n = 30$) foram aleatoriamente distribuídos em cinco tratamentos (0, 5, 10, 15 e 20% de glicerina bruta na matéria seca da dieta). No final do experimento todos os animais foram abatidos. A insulina plasmática aumentou linearmente ($P < 0,05$) com a inclusão de glicerina, porém a glicose sanguínea não foi alterada. O consumo de MS e a digestibilidade aparente total dos nutrientes e MS também não foram afetadas pelos tratamentos. Similarmente, a substituição do milho pela glicerina não provocou nenhum efeito sobre o ganho médio diário de peso, de peso em jejum e de peso de carcaça, a eficiência de deposição de carcaça e a composição química e física do ganho e do ganho de carcaça. Da mesma forma, o rendimento de carcaça, AOL e EGS também não foram afetados. Assim, pode-se concluir que a substituição do milho pela glicerina bruta até 20% da MS não afeta o consumo e digestibilidade dos nutrientes, o desempenho produtivo, as características de carcaça e o rendimento dos cortes comerciais. No segundo estudo desse experimento, avaliou-se o efeito desta inclusão

da glicerina bruta em substituição ao milho em dietas de bovinos de corte terminados em confinamento, sobre as características de carcaça e a qualidade da carne. Foram utilizadas as carcaças dos animais do estudo anterior que após o resfriamento foram pesadas e realizou-se a mensuração do pH. Em seguida foram coletadas amostras do músculo *Longissimus*, entre a 9^a e 11^a costelas para realização das análises de qualidade de carne. Não houve efeito do nível de inclusão de glicerina ($P > 0,05$) sobre consumo de energia metabolizável e relação entre insulina e glicose. Da mesma forma, a proporção de fibras no músculo não foi afetada ($P > 0,05$). No entanto o diâmetro das fibras do tipo I e IIA aumentou ($P < 0,05$) com a inclusão de glicerina bruta. O peso final quente e frio e pH inicial e final da carcaça Também não foram afetados pelos tratamentos sendo os valores médios encontrados do para essas características iguais a 308,09 kg; 301,26, kg; 7,10 e 5,72, respectivamente. A força de cisalhamento, índice de fragmentação miofibrilar e teores de colágeno total e solúvel não foram influenciados ($P > 0,05$) pela inclusão de glicerina bruta. Em relação às perdas da carne também não foram detectadas diferenças ($P > 0,05$) entre os tratamentos. Os valores de luminosidade (L^*), intensidade de vermelho (a^*) e intensidade de amarelo (b^*) da carne não diferiram ($P > 0,05$). A inclusão de glicerina bruta até 20% da matéria seca pode ser usada em dietas de terminação de bovinos de corte, pois não promove nenhum efeito deletério a nenhuma das principais variáveis qualitativas da carne.

ABSTRACT

MONNERAT, João Paulo Ismério dos Santos, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, September, 2012. **Nutritional evaluation, performance and meat quality of beef cattle fed with crude glycerin diets.** Advisor: Pedro Veiga Rodrigues Paulino. Co-advisors: Sebastião de Campos Valadares Filho and Mário Fonseca Paulino.

This thesis consists of three experiments. The first experiment was conducted aiming to determine the crude glycerin compounds from the biodiesel industry and the energy value on diets for beef cattle. For the test for determining the energy value of glycerin were used eight cattle, steers, and crossbred with an average initial weight of 334 ± 121.13 kg. The experiment was evaluated following the four-by-four Latin Square design. Within each square, two treatments were implemented according crude glycerin and roughage ratio (5:95 and 15:85 on DM) and two experimental periods. Crude glycerin had 105.4g.kg^{-1} of moisture and 90.09 g.kg^{-1} of mineral matter, 805.5 g.kg^{-1} of glycerol and 160 mg.kg^{-1} of methanol on DM. For energy values were found 934.46 g.kg^{-1} and 4.01 and 3.64 for Mcal.kg^{-1} TDN, digestible and metabolizable energy, respectively. In the second experiment five crossbred bulls were used, with 346 ± 21.42 kg of body weight cannulated in the rumen and abomasum. The experimental design was Latin Square 5×5 (five periods and five treatments). Each experimental period had duration of 15d, seven days to adaptation and eight to the collections. Animals were fed a basal diet based containing 50% corn silage and 50% concentrate, in dry matter basis (DM). It was used five diets with five levels of crude glycerin inclusion (0, 5, 10, 15 and 20%DM). Corn was replaced by an equivalent amount of food grade glycerin and corn gluten feed. This study was conducted aiming to evaluate the effect of replacing corn by crude glycerin on feed intake, ruminal and total digestibility, ruminal digestion and passage rate, fermentation characteristics, protein efficiency, microbial protein yield and urinary nitrogenous excretion. Only the EE intake was increased ($P < 0.05$) by crude glycerin inclusion. Except crude protein (CP) total digestibility, there were effects of glycerin level ($P < 0.05$) on other digestibilities constituents. Thus the diets energy values were increased ($P < 0.05$) by glycerin. Passage rate did not differ among the treatments ($P > 0.05$) but digestion rate of DM, OM and NDFap were linearly increased ($P < 0.05$). No

differences ($P > 0.05$) in ruminal pH and volatile fatty acid concentration were observed, however ammonia concentration decreased ($P < 0.05$) among glycerin levels. There was no effect ($P > 0.05$) of crude glycerin levels on protein efficiency, microbial protein yield and urinary nitrogenous excretion. . It can be concluded Crude glycerin should replace corn up to 20%DM in diets in finishing diets of beef cattle. The third trial consists of two different works. The first study was developed with the objective of evaluating the effect of replacing corn with crude glycerin on the intake and total apparent digestibility of diet components, performance, carcass traits, yields of commercial cuts, and carcass composition of beef cattle under feedlot conditions. Thirty-four crossbreed Red Angus x Nellore bulls with an average initial weight of 343.9 ± 16.56 kg were used. Four animals that served as the control group were slaughtered at the beginning of the experiment, and the remaining animals ($n = 30$) were assigned to a complete randomized design with five treatments and six replications per treatments (0, 5, 10, 15 or 20% glycerin inclusion on DM basis). At the end of the experiment all the animals were slaughtered. The insulin was linearly increased ($P > 0.05$) by the treatments, but the glucose was unaffected. The dry matter feed intake (DMI), nutrients digestibility were unaffected ($P > 0.05$) by treatment. Similarly, glycerin level did not affect ($P > 0.05$) the empty body average daily body weight gain, carcass daily weight gain, carcass deposition efficiency, carcass composition and physical and chemical composition of carcass gain. Dietary treatments also unaffected ($P > 0.05$) dressing percentage (59.72 ± 1.2950 %), LM (78.09 ± 7.3424 cm²) a carcass backfat (5.28 ± 2.13 mm). It can be concluded that Crude glycerin substitution of corn ground could be included in finishing cattle diet up to 20% of the DM without lead to detrimental effects on intake, growth performance, carcass performance or basic cut yields. In the second study were used carcasses from the previous study. After 24-h chill, data of carcass weight and pH. After carcass data collection, a boneless *Longissimus* section between the 9th and 11th ribs was removed, vacuum packaged, frozen and held at -20°C . No effect of inclusion level of glycerin ($P > 0.05$) on metabolizable energy intake and insulin to glucose ratio. Similarly, muscle fibers proportions were unaffected by treatment. However, an increased fiber diameter to type I and IIA was observed ($P < 0.05$) in bulls fed with crude glycerin. The final weight to fresh and cold carcass and initial and final pH also were unaffected by

treatments. The Warner-Bratzler shear force, myofibrillar fragmentation index and total and collagen solubility were not affected ($P > 0.05$) by the crude glycerin level. No changes were observed ($P > 0.05$) to meat losses by the treatments. The crude glycerin level did not affect ($P > 0.05$) the instrumental color of the *Longissimus*. The means to L*, a* and b* were unaffected. In addition, diets containing up to 20% of crude glycerin on dry matter can be used in diets for finishing beef cattle because it does not lead to detrimental effects on carcass traits and meat quality variables.

INTRODUÇÃO GERAL

O crescimento sem precedentes da população mundial nos últimos 50 anos, até alcançar 7 bilhões de pessoas, reavivou as preocupações sobre a chegada de uma grande crise demográfica. A crescente competição por energia, terras e água entre as atividades agrícolas e industriais e a dificuldade de incorporação de novas áreas pela agropecuária, desafia a pecuária de corte a produzir de forma mais eficiente (Chizzotti et al., 2011).

Sob o ponto de vista do Brasil, isso representa uma série de implicações. Segundo a Organização Mundial de Comércio, o Brasil é o terceiro maior exportador mundial agrícola. Portanto, com o aumento da demanda por alimentos, haverá estímulos para que a produção nacional destinada às exportações e ao mercado interno aumente, promovendo transformações ao longo de todos os elos que compõem as cadeias produtivas.

Aliado a isso, o crescimento populacional está sendo acompanhado pelo crescimento econômico dos países em desenvolvimento. Essa melhoria na distribuição de renda tornou os consumidores mais exigentes e preocupados em consumir produtos oriundos de cadeias produtivas que adotam práticas ambientalmente corretas, socialmente justas e que atendam às normas vigentes de sanidade e higiene, além de garantir os requisitos desejados pelos diferentes grupos de consumidores quanto a atributos de qualidade sensorial.

Sob a ótica do pecuarista, inúmeras transformações no modelo produtivo tornaram-se fundamentais, de forma a ajustarem-se quanto aos aspectos econômicos, sociais e ambientais. Para isso, faz-se necessário a otimização dos recursos produtivos, o incremento da produtividade e a redução dos custos através da adoção de pacotes tecnológicos que tornem possíveis a exploração pecuária cada vez mais competitiva e rentável (Paulino et al., 2012).

O modelo atual de produção pecuária passou a priorizar tecnologias mais intensivas de capital, que geram significativos ganhos na produção da terra, além de avanços na qualidade do produto final (Zervoudakis et al., 2011), colocando em

destaque a busca por elevadas eficiências econômica e biológica e sustentabilidade ambiental.

Nesse contexto, o sistema de engorda em confinamento apresenta-se como uma estratégia que permite produzir carne de qualidade, com valor agregado de acordo com as exigências dos diferentes mercados consumidores e, sobretudo, ao longo de todo o ano. Porém, a alimentação, principalmente neste tipo de sistema, é o item de maior peso no custo final e buscar alternativas de redução de custo é preocupação constante dos gestores envolvidos com esse tipo de sistema produtivo.

Paralelamente a todas essas transformações que culminaram na necessidade de adoção de um modelo de exploração mais adequado na bovinocultura de corte brasileira, outros setores da atividade econômica brasileira também precisaram passar por ajustes para atender as novas demandas mundiais, primando-se o setor energético.

Devido às crescentes preocupações relacionadas ao meio ambiente, e principalmente ao aquecimento global, atividades antrópicas como queima de combustíveis fósseis e aumento da frota de veículos (inclusive para escoar a maior produção agrícola), somados ao fato de que as reservas de petróleo comercialmente exploráveis crescem a taxas menores que o consumo, surge a necessidade de pesquisar a potencialidade de uso de fontes alternativas de energia de forma a diversificar as matrizes energéticas.

A busca por energias renováveis está embasada em princípios econômicos, ambientais e sociais, uma vez que se pretende diminuir a dependência de combustíveis fósseis, reduzir os gastos das atividades econômicas em que o uso de combustíveis representa parcela significativa dos custos de produção, e permitir a inserção de pequenos produtores rurais no processo produtivo, seja produzindo as matéria primas a serem utilizadas para gerar energia ou aproveitando os co-produtos gerados pela produção de energia alternativa, aliando interesses de dois setores da economia.

Dentre as principais fontes alternativas de energia limpa adotadas pelo Brasil, o uso do álcool produzido através da cultura da cana-de-açúcar é destaque internacional, sendo sua viabilidade econômica indiscutível, visto que apresenta altíssima eficiência

energética. No entanto, o Brasil também tem se posicionado no sentido de apoiar o desenvolvimento da agroindústria do biodiesel.

De acordo com Storck Biodiesel (2008), o biodiesel é considerado combustível ecologicamente correto, uma vez que é biodegradável e atóxico. Isso significa que sua queima, quando comparada ao diesel derivado do petróleo, resulta em menor liberação de monóxido de carbono e hidrocarbonetos não queimados.

O biodiesel inseriu-se na matriz energética brasileira a partir da criação de seu marco regulatório em 2005, em que se previa a autorização da adição de 2 % deste combustível ao óleo diesel de origem fóssil, sendo que desde 1º de janeiro de 2010, o óleo diesel comercializado em todo o Brasil contém 5 % de biodiesel. Esta regra foi estabelecida pela Resolução nº 6/2009 do Conselho Nacional de Política Energética (CNPE) que reduziu prazo da inclusão de 5% de biodiesel, como mínimo obrigatório, em adição ao óleo diesel (Lei 11097/2005), anteriormente previsto para 2013.

Segundo a Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), o Brasil está entre os maiores produtores e consumidores de biodiesel do mundo, com uma produção anual, em 2011, de cerca de 2,6 bilhões de litros e uma capacidade instalada, no mesmo ano, para cerca de 6,4 bilhões de litros. O acumulado de 2012 até junho já ultrapassa os 1,2 bilhões de litros, haja visto que as maiores produções acontecem no segundo semestre do ano. Assim, com a expansão da indústria de biodiesel no país surge um potencial incremento na disponibilidade da glicerina bruta, um co-produto da agroindústria do biodiesel, e que pode ser utilizado como fonte de energia em dietas para bovinos (Donkin, 2008a).

O biodiesel pode ser produzido através de fontes vegetais ou animais (Ma & Hanna, 1999), em um processo chamado de transesterificação, no qual ocorre a transformação de triglicerídeos em moléculas menores de ésteres de ácidos graxos (Ferrari et al., 2005), sendo essa transformação química resultante da adição de um álcool (metanol ou etanol) à fonte lipídica na presença de um catalisador (NaOH ou KOH). Estima-se que para 50 litros de biodiesel produzidos são gerados aproximadamente 4,5 kg de glicerina bruta (Donkin, 2008a), além de sub-produtos e co-produtos, representados por farelos e tortas de oleaginosas utilizadas para extração do óleo a ser empregado no processo de produção do biodiesel. Considerando-se a

produção anual, em 2011, de biodiesel de 2,6 bilhões de litros, gera-se uma disponibilidade potencial de 234.000 toneladas de glicerina bruta, volume incapaz de ser totalmente absorvido pela indústria de cosméticos, maior consumidora de glicerina nos dias atuais. Além disso, no caso da glicerina bruta, resultante do processo de transesterificação de óleos e gorduras residuais na produção de biodiesel, são necessários processos complexos e onerosos para que essa matéria prima alcance as exigências de grau de pureza necessário para ser utilizada em indústrias de produtos cosméticos, químicos, alimentícios e farmacêuticos (Robra et al., 2006). Desta forma, a disponibilidade para uso na alimentação animal se torna uma das formas alternativas para garantir a utilização desse co-produto.

Assim, com maior oferta do produto no mercado, é possível que as projeções futuras do preço da glicerina bruta tornem-na um ingrediente com competitividade a ser utilizado em dietas de bovinos de corte em substituição às fontes energéticas tradicionais, como o milho (Donkin, 2008a). Embora a glicerina apresente-se como uma fonte alternativa de energia para alimentação de ruminantes, ainda existem diversas perguntas não respondidas relacionadas ao seu manuseio, níveis de inclusão, impacto e nível de contaminantes e valor alimentar relativo a outras fontes energéticas (Donkin, 2008a). Portanto, há a necessidade do desenvolvimento de pesquisas científicas que procurem identificar formas de utilização dos sub-produtos e co-produtos gerados pela agroindústria do biodiesel, de forma a reduzir o custo de produção desse combustível (Mello et al., 2007), gerando maior competitividade à sua cadeia produtiva. Parece ser um consenso entre a comunidade científica que os co-produtos gerados pela cadeia do biodiesel devem ser foco de análises mais detalhadas, pois podem ser fator determinante para a viabilidade econômica de produção desse combustível (Costa, 2005; Rathmann et al, 2005; Mello et al., 2008). Diante da grande escassez de estudos acerca do aproveitamento desses co-produtos como elementos de viabilização da cadeia produtiva, torna-se necessário a realização de pesquisas na área. Dentro desse contexto, o emprego da glicerina bruta na nutrição de ruminantes surge como uma forma adicional de utilização desse material (Costa, 2005), possibilitando o aumento na demanda desse produto, reduzindo o desequilíbrio entre oferta e demanda que poderia vir a surgir em função do aumento da produção de biodiesel no Brasil no futuro.

A glicerina bruta resultante do processo de produção de biodiesel pode apresentar composição variada, dependendo da presença de contaminantes e do nível de purificação adotado pela indústria. Avaliações recentes realizadas nos Estados Unidos indicaram conteúdos de 76,2 % de glicerol, 7,98 % de gordura, 0,05 % de proteína e 2,73 % de cinzas (Donkin, 2008a) na glicerina bruta advinda de indústrias produtoras de biodiesel. A fração mineral foi composta por 11 ppm de cálcio, 6,8 ppm de magnésio, 53 ppm de fósforo e 1,2 % de sódio. Geralmente, a glicerina é considerada segura para uso como ingrediente para ração animal, embora tenham surgido preocupações em relação aos níveis de contaminantes no produto, principalmente metanol (Sellers, 2008). O FDA (Food and Drug Administration) nos EUA considera que glicerina com mais de 150 ppm de metanol é insegura para a alimentação animal. Porém, não havia critérios de conformidade e de qualidade para a glicerina destinada à alimentação animal. Em maio de 2010, o Departamento de Fiscalização de Insumos Pecuários do MAPA (DFIP) autorizou o uso da glicerina bruta (loira) como insumo para a alimentação animal e estabeleceu um padrão mínimo de qualidade, como: glicerol (mínimo de 800 g.kg⁻¹); umidade (máximo de 130 g.kg⁻¹); metanol (máximo de 159 mg.kg⁻¹) e sódio e matéria mineral (valores garantidos pelo fabricante g.kg, podendo variar pelo processo produtivo). Apesar da grande variação na composição química da glicerina bruta oriunda da agroindústria do biodiesel, esse fato não limita o seu potencial uso como fonte de energia em dietas de bovinos de corte, principalmente na fase de terminação, em que as exigências de energia são mais pronunciadas, visto que os animais encontram-se em uma etapa do crescimento em que a deposição de gordura é mais acentuada (Fernandes et al, 2005).

O milho, ingrediente básico na formulação de dietas de ruminantes, tem sido empregado como fonte primária de energia na alimentação de bovinos de corte em confinamento. Em função da ciclicidade característica das *commodities* agrícolas, em momentos em que o preço do milho atinge cotações altas, os produtores buscam alternativas de sua substituição de forma a reduzir o custo da dieta sem, contudo, afetar o desempenho dos animais. Assim, historicamente, diversos estudos têm sido realizados objetivando obter formas de substituição do milho por outros alimentos alternativos, destacando-se polpa cítrica (Prado et al., 2000), casca de soja (Ezequiel et

al., 2006), resíduos da mandioca (Marques et al., 2000), farelo de mamona (Diniz, et al., 2010) entre outros (Valadares Filho et al., 2002). Informações sobre o uso de glicerina bruta como ingrediente energético de dietas de bovinos de corte no Brasil começam a ser disponibilizadas (Fávaro, 2010; San Vito, 2010; Van Cleef, 2010; Zacaroni, 2010; Serrano, 2011, Carvalho, 2011 e Leão et al., 2012), enquanto em países concorrentes seu uso já é avaliado há mais tempo (Pyatt et al., 2007; Gunn et al., 2008; Mach et al., 2008; Parsons et al., 2009; DiLorenzo & Galyean, 2009; Moriel et al., 2011; e Ramos & Kerley, 2012).

Um dos primeiros passos na avaliação do potencial de uso de um novo ingrediente na alimentação animal consiste em determinar qual o nível ótimo de sua inclusão, considerando os efeitos sobre o desempenho animal e a economicidade do sistema, considerando-se os custos associados à alimentação e a receita gerada pela produção de carne e a qualidade do produto obtido. Estudos recentes envolvendo vacas em lactação têm indicado que a substituição de milho por glicerina até o nível de 15 % da matéria seca total da dieta não afeta adversamente a produção e composição do leite (Donkin, 2008b).

Considerando que são confinados por volta de 3,1 milhões de bovinos por ano no Brasil (Anualpec, 2011), há grande espaço para inclusão da glicerina na dieta desses animais. Alguns trabalhos internacionais procuraram avaliar diferentes níveis de inclusão de glicerina na dieta de bovinos destinados à produção de carne.

Nos trabalhos pioneiros com inclusão de glicerina em dietas de novilhos em terminação, Pyatt et al. (2007) relataram aumento no ganho diário, redução no consumo de matéria seca e, conseqüentemente, melhora da eficiência alimentar quando a glicerina substituiu 10 % o milho da dieta.

Mach et al. (2008), utilizando tourinhos da raça Holandesa alimentados com alto nível de concentrado na dieta, testaram a inclusão de 0, 4, 8 e 12 % de glicerina bruta na matéria seca total e verificaram que não houve efeito dos níveis de glicerina sobre o consumo alimentar, ganho de peso, eficiência alimentar e qualidade da carcaça e da carne.

Versemann et al. (2008) procuraram determinar níveis ótimos de inclusão de glicerol na dieta de bovinos de corte confinados e testaram 0, 5, 10 e 20 % de glicerina

bruta, que substituiu, respectivamente, 0, 10, 20 e 40% do milho da dieta. Os animais foram abatidos após atingirem peso pré-estabelecido de 537 kg e espessura de gordura, determinada por ultrasonografia, de 11,8 mm, ou seja, animais pesados e bem acabados, considerando a realidade brasileira. Detectaram um efeito quadrático dos níveis de inclusão de glicerina bruta sobre o ganho de peso, enquanto o consumo de matéria seca não foi afetado pelos tratamentos. A eficiência alimentar e a deposição de gordura de marmoreio foram melhorados no nível de 10 % de inclusão de glicerina, fazendo com que os autores concluíssem que o fornecimento de glicerina bruta na dieta de novilhos de corte em confinamento parece ser otimizado ao nível de 10 % da matéria seca total.

Parsons et al. (2009) trabalhando com novilhas alimentados com dietas de alto concentrado, observaram efeito quadrático sobre o ganho de peso e características de carcaça. Estes autores encontraram os melhores resultados para cada variável avaliada em diferentes níveis de inclusão de glicerina na dieta (0, 2, 4, 8, 12 e 16%).

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 efeitos adversos 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 afetar a digestibilidade da matéria seca e da fibra da dieta. Resultados preliminares apontados por esses mesmos autores indicaram 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.

Com base nas informações obtidas no Brasil San Vito (2010), e Zacaroni (2010) avaliaram a substituição do milho pela glicerina bruta em dietas de vacas de leite. San

Vito (2010) avaliou os níveis de substituição de 0, 33,3; 66,7 e 100% do milho dietético pela glicerina bruta e concluiu que a glicerina pode ser incluída até 33,3% na dieta de vacas leiteira de cerca de 30 kg de leite por dia, o que significaria 7% de inclusão na matéria seca.

Zacaroni (2010) testaram dois níveis de substituição (0 e 12,5% na matéria seca) e verificaram que a inclusão de glicerina deprime a produção de leite, bem como a eficiência alimentar, apesar de não alterar o consumo e digestibilidade dos nutrientes.

Das informações nacionais disponíveis sobre o uso da glicerina bruta para bovinos destinados ao abate, os resultados mostraram-se mais promissores. Van Cleef (2010) avaliando o efeito a inclusão da glicerina bruta (0, 7,5, 15 e 30 % da matéria seca) em dietas de bovinos de corte confinados, verificaram que inclusão da glicerina pode ser realizada até o maior nível testado pois não influencia o consumo de matéria seca e nenhuma variável do desempenho animal.

Serrano (2011) também não encontrou efeito negativo da inclusão de glicerina bruta em dietas de bovinos de corte. Esse autor verificou que nenhum dos níveis de inclusão avaliado (0, 3, 6 e 12 % da matéria seca) influencia a ingestão de matéria seca, digestibilidade aparente total e parcial, cinética ruminal e nem a síntese de proteína microbiana.

Similarmente, Carvalho (2011) testou quatro níveis de inclusão de glicerina bruta (0, 6, 12 e 18 % da matéria seca) em dietas de tourinhos Red Norte e reportaram que até o maior nível testado o ganho de peso não foi afetado, enquanto a inclusão da glicerina melhorou o rendimento de carcaça e o perfil dos ácidos graxos da carne.

Mais recentemente, Leão et al. (2012) testaram a glicerina bruta em substituição ao milho para novilhos e vacas de origem leiteira em confinamento. Esses autores concluíram que a glicerina bruta pode ser incluída até 24% da matéria seca total nas dietas, sem comprometer o desempenho dos animais e apresentar toxicidade.

Em relação ao metabolismo do glicerol, constituinte majoritário da glicerina bruta, existem duas vias básicas de utilização em nível de rúmen. Parte do glicerol é fermentada pelas bactérias ruminais, preferencialmente a propionato, e parte pode ser absorvida diretamente pelo epitélio ruminal, sendo então utilizado como substrato para

gliconeogênese hepática. Segundo Krehbiel (2008), do total do glicerol que chega ao rúmen, cerca de 44% são fermentados, 43% são absorvidos pela parede, enquanto 13% passaria para o omaso juntamente com a digesta. Todavia, essas proporções são dose-dependente e, portanto, podem variar significativamente (Rémond et al. 1993; e DeFrain et al., 2004).

O que escapa à fermentação ou não é absorvido a nível de rúmen é absorvido a nível intestinal, onde pode provocar melhoras na digestibilidade dos nutrientes da dieta, conforme sugerido por Wang et al. (2009). O glicerol que escapa da fermentação ruminal e é absorvido pela parede ruminal ou mais adiante do trato digestório determina o poder gliconeogênico da glicerina (DeFrain et al., 2004).

Estudo realizado por Rémond et al. (1993) detectou que a habilidade do ambiente ruminal em degradar o glicerol aumentou à medida em que sua inclusão foi elevada, e que a adaptação microbiana parece ser imediata, uma vez que a taxa máxima de degradação foi alcançada no primeiro dia de infusão ruminal de glicerol. Nesse mesmo trabalho, os autores verificaram que houve desaparecimento total do glicerol (até 480 g) após quatro horas de seu fornecimento e que do total fornecido, 35-69% foi absorvido ou convertido em propionato no rúmen. No entanto, tem sido reportado que o glicerol tem habilidade de inibir a atividade celulolítica (Roger et al., 1992) e de diminuir a captura de nitrogênio pelos microrganismos ruminais, além de afetar a atividade proteolítica dos mesmos em cerca de 20 % (Paggi et al., 1999), o que pode explicar a piora no desempenho dos animais quando níveis muito altos de glicerina são empregados.

Em relação aos efeitos da inclusão de glicerina bruta na dieta de bovinos e seus efeitos sobre parâmetros ruminais, consumo, digestibilidade dos nutrientes e eficiência do crescimento microbiano, poucos estudos foram realizados, e os escassos trabalhos existentes basearam-se em estudos *in vitro* ou então em animais fistulados recebendo quantidade limitada de glicerol (Rémond et al., 1993; Wang et al., 2009; Krueger et al., 2010). Um dos efeitos marcantes da inclusão de glicerol na dieta de bovinos é a alteração do padrão da fermentação ruminal, em que ocorre aumento na produção de propionato em detrimento de acetato, fazendo com que a relação acetato:propionato diminua (Wang et al., 2009). De uma forma geral, quando doses moderadas de glicerol

são empregadas (200-300 g/animal/dia), parece haver um efeito positivo sobre a concentração de ácidos graxos voláteis no rúmen, a degradabilidade da FDN da dieta, a digestibilidade dos nutrientes e a produção de proteína microbiana (Wang et al., 2009). Porém, em quantidades maiores, os efeitos podem passar a ser prejudiciais, pois parece que o glicerol modula o sistema digestivo e enzimático dos animais ruminantes numa forma dose-dependente.

Implicações do uso da glicerina na dieta sobre a qualidade e composição da carcaça e qualidade sensorial da carne, no entanto, ainda precisam ser mais bem investigados (Drouillard, 2008). Os possíveis efeitos do fornecimento de glicerina bruta na dieta de bovinos de corte sobre a qualidade da carne e da carcaça poderiam estar relacionados, principalmente, ao aumento na disponibilidade de compostos gliconeogênicos que seriam utilizados como precursores de ácidos graxos a serem depositados de forma intramuscular, acarretando em melhorias no grau de marmorização da carne (Evans et al., 2008; Versemann et al., 2008). Isso ocorreria porque o glicerol presente na glicerina bruta é convertido preferencialmente a propionato no rúmen, ou então absorvido diretamente pelo epitélio ruminal, sendo então convertido a glicose (Krehbiel, 2008). A deposição de gordura intramuscular utiliza glicose como principal fonte de carbono para a síntese de ácidos graxos (Schoonmaker et al., 2004), sendo direcionada também pela insulina, hormônio que estimula a incorporação de glicose em ácidos graxos intramusculares e subcutâneos em animais alimentados com altos níveis de concentrado (Rhoades et al., 2007; Smith et al., 2008). A inclusão de glicerina bruta na dieta de bovinos pode resultar, portanto, em incrementos na concentração de insulina plasmática e na relação insulina:glicose, o que pode acarretar em maior síntese de gordura de marmoreio, conforme encontrado por Mach et al. (2008). Para que esse resultado ocorra, no entanto, torna-se necessário que os animais apresentem predisposição genética para produzir carne com grau de marmoreio superior. Drouillard (2008), no entanto, afirmou que a inclusão de glicerina em dieta à base de milho floculado, propiciou aumento linear na área de olho de lombo dos animais, acompanhado por uma diminuição, também linear, na deposição de gordura subcutânea e intermuscular. Portanto, os efeitos do uso da glicerina sobre a

qualidade da carcaça e da carne parecem ainda ser conflitantes, carecendo de maiores estudos.

Nesse sentido, torna-se necessário a realização de estudos para determinar quais os efeitos que o glicerol presente na glicerina bruta pode ter sobre o trato digestivo dos animais, de forma a definir níveis ótimos de inclusão, levando-se em consideração nesse tipo de avaliação, dados produtivos de desempenho e de qualidade do produto obtido, ou seja, a carcaça e a carne.

Diante do grande potencial que a glicerina bruta apresenta como ingrediente energético, torna-se necessário desenvolver trabalhos de pesquisa nas condições brasileiras, utilizando animais e dieta típica de bovinos de corte em confinamento, no sentido de estudar a viabilidade de uso da glicerina bruta na alimentação dos animais, acompanhando seus efeitos sobre parâmetros digestivos, o desempenho, a produção e a qualidade da carne obtida.

LITERATURA CITADA

- Abughazaleh, A.A.; El-Nor, S.A.; Babu, R. 2008. The effect of replacing corn with glycerol on rumen fermentation and fiber digestibility. **Journal of Animal Science**, v.86, E-Suppl.2, p.474.
- Anualpec 2011. **Anuário estatístico da pecuária**. São Paulo: FNP Consultoria & Comercio, 2011.
- Carvalho, J.R.R. **Desempenho, características de carcaça e qualidade de carne de tourinhos alimentados com diferentes níveis de glicerina bruta**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2011). 135p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, 2011.
- Chizzotti, M.L.; Ladeira, M.M.; Neto, O.R.M.; e Lopes, L.S. 2011. Eficiência da produção de bovinos e o impacto ambiental da atividade pecuária, In: SIMPÓSIO DE PECUÁRIA DE CORTE, 4. 2011.Lavras. **Anais...** Lavras. p.36-59.
- Costa, B.J. 2005. Biodiesel – uma visão geral. In: WORKSHOP IDENTIFICAÇÃO DE GARGALOS TECNOLÓGICOS NA AGROINDÚSTRIA PARANAENSE, 1., 2005. Curitiba. **Anais...** Curitiba: IPARDES: Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social. p.85-106.

- DeFrain, J.M., Hippen, A.R., Kalscheur, K.F., Jardon, P.W., 2004. Feeding glycerol to transition dairy cows: effects on blood metabolites and lactation performance. **Journal of Dairy Science**. v.87, p.4195–4206.
- DiLorenzo, N. e Galyean, M.L. 2009. Applying technology with newer feed ingredients in feedlot diets: Do the old paradigms apply? **Journal of Animal Science**. v.88, p 123-132.
- Diniz, L.L.; Valadares Filho, S.C.; Campos, J.M.S. et al. 2010. Effects of castor meal on the growth performance and carcass characteristics of beef cattle. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v.23, n.10, p.1308-1318.
- Donkin, S.S. 2008a. Glycerol form biodiesel production: the new corn for dairy cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, *suplemento especial*, p.280-286.
- Donkin, S.S. Use of glycerin in dairy diets. 2008b. **Journal of Animal Science**, v.86, E-Suppl.2, p.393.
- Drouillard, J.S. 2008. Glycerin as a feed for ruminants: using glycerin in high-concentrate diets. **Journal of Animal Science**, v.86, E-Suppl.2, p.392.
- Evans, H.L.; Wiegand, B.R.; Kerley, M.S. et al. 2008. Characterization of meat quality and lipid profile from steers fed crude glycerol. **Journal of Animal Science**, v.86, E-Suppl. 2, p.40.
- Ezequiel, J.M.B.; Cruz E Silva, O.G.; Galati, R.L. et al. 2006. Desempenho de novilhos Nelore alimentados com casca de soja ou farelo de gérmen de milho em substituição parcial ao milho moído. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.2, p.569-575.
- Fávaro, V.R. **Utilização da glicerina, co-produto do biodiesel, na alimentação de bovinos**. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista “Julio Mesquita Filho”, 2010. 59p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, 2010.
- Fernandes, H.J.; Paulino, M.F.; Martins, R.G.R. et al. 2005. Crescimento de componentes corporais de três grupos genéticos nas fases de recria e engorda. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.1, p.288-296.
- Ferrari, R.A.; Oliveira, V.S.; Scabio, A. 2005. Biodiesel de soja – taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia. **Química Nova**, v.28, n.1, p.19-23.
- Gunn, P.J.; et al. 2008. Effects os distillers’s dried garins whith soluble and crude glycerin on performance and carcass characteristics in early weaned beef calves. **Journal of animal Science**. v.59, p.290-294.

- Hess, B.W.; Lake, S.L.; Gunter, S.A. 2008. Using glycerin as a supplement for forage-fed ruminants. **Journal of Animal Science**, v.86, E-Suppl.2, p.392-393.
- Krehbiel, C.R. 2008. Ruminal and physiological metabolism of glycerin. **Journal of Animal Science**, v.86, E-Suppl.2, p.392.
- Krueger, N.A., R. C. Anderson, L.O. Tedeschi, et al. 2010. Evaluation of feeding glycerol on free fatty acid production and fermentation kinetics in vitro. **Bioresource Technology**. v. 101, p.8469–8472.
- Leão, J.P.; Ramos, A.T.; Maruo, V.M; et al. 2012. Anatomopatologia de amostras de bovinos alimentados com glicerol. **Ciência Rural**. v.42, n.7.
- Ma, F.; Hanna, M.A. 1999. Biodiesel production: a review. **Bioresource Technology**, v.10, n.1, p.1-15.
- Mach, N., A. Bach, and M. Devant. 2008. Effects of crude glycerin supplementation on performance and meat quality of Holstein bulls fed high-concentrate diets. **Journal of Animal Science**. v.87, p.632-638.
- Marques, J.A.; Prado, I.N.; Zeoula, L.M. et al. 2000. Avaliação da mandioca e seus resíduos industriais em substituição ao milho no desempenho de novilhas confinadas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.5, p.1528-1536.
- Mello, D.F.; Franzolin, R.; Fernandes, L.B. Et Al. 2008. Avaliação do resíduo de nabo forrageiro extraído da produção de biodiesel como suplemento para bovinos de corte em pastagens. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.9, n.1, p.45-56.
- Mello, F.O.T.; Paulillo, L.F.; Vian, C.E.F. 2007. O biodiesel no Brasil: panorama, perspectivas e desafios. **Informações Econômicas**, v.37, n.1, p.28-40.
- Moriel, P., V. Nayigihugu, B. I. Cappellozza, E. P. Gonçalves, J. M. Krall, T. Foulke, K. M. Cammack, and B. W. Hess. 2011. Camelina meal and crude glycerin as feed supplements for developing replacement beef heifers. **Journal of Animal Science**. v.89, p.4314-4324.
- Paggi, R.A.; Fay, J.P.; Fernández, H.M. 1999. Effect of short-chain acids and glycerol on the proteolytic activity of rumen fluid. **Animal Feed Science and Technology**, v.78, p.341-347.
- Parsons, G. L., M. K. Shelor, and J. S. Drouillard. 2009. Performance and carcass traits of finishing heifers fed crude glycerin. **Journal of Animal Science**. v.87, p.653–657.

- Paulino, M. F.; Detmann, E.; Silva, A.G. et al. 2012. Bovinocultura de alto desempenho com sustentabilidade. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 4. 2012. Viçosa. **Anais...** Viçosa. p.183-196.
- Prado, I.N.; Pinheiro, A.D.; Alcalde, C.R. et al. 2000. Níveis de substituição do milho pela polpa de citros peletizada sobre o desempenho e características de carcaça de bovinos mestiços confinados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.6, p.2135-2141. (Supl. 1).
- Pyatt, N. A., P. H. Doane, and M. J. Cecava. 2007. Effect of crude glycerin in finishing cattle diets. **Journal of Animal Science**. v.85(Suppl.1):530. (Abstr.)
- Ramos, M.H.; e Kerley, M.S. 2012. Effect of dietary crude glycerol level on ruminal fermentation in continuous culture and growth performance of beef calves. **Journal of Animal Science**. v.90, p.892-899.
- Rathmann, R.; Benedetti, O.; Plá, J.A. Et Al. 2005. Biodiesel: uma alternativa estratégica na matriz energética brasileira? In: SEMINÁRIO DE GESTÃO DE NEGÓCIOS, 2., 2005. Curitiba. **Anais...** Curitiba: Biodiesel, 13 p.
- Rémond, B.; Souday, E.; Jouany, J.P. 1993. In vitro and in vivo fermentation of glycerol by rumen microbes. **Animal Feed Science and Technology**, v.41, n.2, p.121-132.
- Rhoades, R.D.; Sawyer, J.E.; Chung, K.Y. et al. 2007. Effect of dietary energy source on in vitro substrate utilization and insulin sensitivity of muscle and adipose tissues of Angus and Wagyu steers. **Journal of Animal Science**, v.85, n.7, p.1719-1726.
- Robra, S.; Almeida Neto, J.A.; Cruz, R.S. et al. 2006. Usos alternativos para a glicerina resutante da produção de biodiesel: Parte 1 – compostagem. In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DO BIODIESEL, 1., 2006. Brasília. **Anais...** Brasília: MCT: Ministério da Ciência e Tecnologia. p.53-57.
- Roger, V.; Fonty, G.; Andre, C. et al. 1992. Effects of glycerol on the growth, adhesion, and cellulolytic activity of rumen cellulolytic bacteria and anaerobic fungi. **Current Microbiology**, v.25, p.197-201.
- San Vito, E. **Glicerina bruta na alimentação de vacas leiteiras**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2010. 40p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2010.
- Schoonmaker, J.P.; Fluharty, F.L.; Loerch, S.C. 2004. Effect of source and amount of energy and rate of growth in the growing phase on adipocyte cellularity and lipogenic enzyme activity in the intramuscular and subcutaneous fat depots of Holstein steers. **Journal of Animal Science**, v.82, n.1, p.137-148.

Sellers, R.S. 2008. Glycerin as a feed ingredient, official definition (s) and approvals. **Journal of Animal Science**, v.86, E-Suppl.2, p.392.

Serrano, R.D.C. **Glicerina bruta e ureia de liberação lenta na alimentação de bovinos de corte**. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2011. 63p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, 2011.

Smith, S.B.; Kawachi, H.; Choi, C.B. et al. 2008. Cellular regulation of intramuscular adipose tissue deposition and composition. **Journal of Animal Science**, v.86, E-Suppl.2, p.124.

Storck Biodiesel. O que é biodiesel? Disponível em: <http://www.storck.com.br/index3.htm>.

Valadares Filho, S.C.; Paulino, P.V.R.; Magalhães, K.A. et al. 2002. Modelos nutricionais alternativos para otimização de renda na produção de bovinos de corte. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 3., 2002. Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV – Universidade Federal de Viçosa. p.197-254.

Van Cleef, E.H.C.B.; Ezequiel, J.M.B.; Gonçalves, J.S. et al. Consumo de matéria seca e desempenho de bovinos de corte alimentados com glicerina bruta. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2010. Salvador. **Anais...** Salvador. SBZ, 2010 (CD-ROM).

Versemann, B.A.; Wiegand, B.R.; Kerley, M.S. et al. 2008. Dietary inclusion of crude glycerol changes beef steer growth performance and intramuscular fat deposition. **Journal of Animal Science**, v.86, E-Suppl.2, p.478.

Wang, C.; Liu, Q.; Huo, W.J. et al. 2009. Effects of glycerol on rumen fermentation, urinary excretion of purine derivatives and feed digestibility in steers. **Livestock Science**. v. 121, 0.15-20.

Zacaroni, O.F. **Respostas de vacas leiteiras à substituição do milho por glicerina bruta**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2010. 55p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal de Lavras, 2010.

Zervoudakis, J.T.; Silva, L.C.R.P.; Silva, R.P.; Neto, A.J.; Koscheck, J.F.W.; e Silva, R.G.F. 2011. Resíduos agroindustriais na suplementação de Bovinos a pasto, In: SIMPÓSIO DE PECUÁRIA DE CORTE, 4. 2011. Lavras. **Anais...** Lavras. p.237-313.

Capítulo I

Composição bromatológica e predição do valor energético da glicerina bruta oriunda da indústria do biodiesel

INTRODUÇÃO

A glicerina bruta é definida como a glicerina separada do biodiesel, sem sofrer qualquer tipo de purificação, que se apresenta na forma de líquido viscoso pardo escuro. As características físicas, químicas e nutricionais da glicerina bruta dependem da fonte lipídica (gordura animal ou óleo vegetal) e do tipo de catálise empregada na produção do biodiesel (Rivaldi et al., 2007). Em geral, essa glicerina contém cerca de 80% de glicerol, além de água, álcool e sais dissolvidos (Veronese et al., 2009). No Brasil, o álcool utilizado é o metanol, assim como o catalisador mais utilizado é o hidróxido de sódio.

Do ponto de vista nutricional, a glicerina tem surgido como fonte alimentar energética alternativa e promissora na produção animal, particularmente para ruminantes. De acordo com a *Food and Drug Administration* (FDA, 21 C.F.R. 582.1320, 2006) a glicerina tem seu uso seguro e reconhecido na alimentação animal, no entanto, o teor de metanol presente na glicerina deve ser levado em consideração, não devendo ultrapassar 150 mg/kg.

O Ministério da Agricultura Abastecimento e Pecuária (MAPA) autorizou o uso de glicerina bruta do biodiesel na alimentação animal em maio de 2010. A glicerina obtida da gordura animal ainda não é autorizada na alimentação de ruminantes em razão do risco de transmissão de doenças priônicas (IN 8/2004). O uso de glicerina oriunda do óleo de mamona e pinhão-mansão também não são autorizados pelo MAPA devido ao potencial risco de presença de toxinas.

A glicerina encontrada no mercado apresenta grande disparidade no que se refere a sua composição. Isso acontece, principalmente, pelas diferenças no grau de pureza do material: metanol, cloreto de sódio, cloreto de potássio, teor de glicerol e ácidos graxos, compostos que podem ser encontrados em diferentes concentrações em consequência das atuais técnicas utilizadas na produção do biodiesel (Lammers et

al., 2008). Kerr et al. (2007) afirmaram que a composição da glicerina bruta pode variar de 78 a 85% de glicerol, 85 a 92% de matéria seca (MS), 2 a 10% de sal (NaCl ou KCl), 0,5% ácidos graxos livres e 0,5% de metanol. Dado estas especificações gerais, a quantidade de glicerol e ácidos graxos apresentam interesses na formulação.

Esta falta de informação quanto à composição bromatológica da glicerina bruta tem limitado seu uso como ingrediente alimentar para bovinos. O uso do glicerol como alimento também pode fornecer alternativa mais barata de alimentação do que os alimentos energéticos tradicionais.

Assim, o objetivo nesse trabalho foi caracterizar quimicamente os compostos presentes na glicerina bruta proveniente da indústria do biodiesel e determinar o seu valor energético em dietas para bovinos de corte.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Animais do Departamento de Zootecnia (DZO) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG, Brasil.

A glicerina bruta foi adquirida de uma agroindústria de biocombustíveis, localizada na região de Anápolis, GO. O produto foi obtido pelo processo de transesterificação do óleo vegetal de soja para a produção do biodiesel.

Para o ensaio de determinação do valor energético da glicerina foram utilizados oito bovinos, machos não castrados, mestiços e com peso corporal inicial médio de $334 \pm 121,13$ kg. Os animais foram mantidos em regime de confinamento do tipo *tie stall*, alojados em baias individuais, cobertas, com piso de concreto revestido de borracha, com área de 9 m^2 e dotados de comedouros de alvenaria e bebedouros automáticos.

O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 2×2 com agrupamento de quatro quadrados simultâneos. Sendo os animais pareados em função do peso corporal. Dentro de cada quadrado foram implementadas duas proporções de glicerina e volumoso e dois períodos experimentais. Cada período experimental teve duração de 10 dias, dos quais sete dias foram destinados à adaptação dos animais aos tratamentos (dietas) e os três restantes às coletas.

Foram utilizadas duas proporções de glicerina bruta (5 e 15% na MS) com uma mistura de silagem de milho e ureia (95 e 85% na MS) para que fosse possível determinar as características energéticas da glicerina e, conseqüentemente, da silagem de milho com ureia. As dietas foram calculadas para serem isoprotéicas e por isso, a uréia foi adicionada às dietas para corrigir essas diferenças (Tabela 1).

A alimentação foi fornecida, na forma de ração completa restrita, ajustada para permitir, aproximadamente, 90% do consumo voluntário, sendo as dietas fornecidas diariamente às 08:00 horas. A restrição do consumo teve por objetivo garantir que os animais consumissem a proporção dos ingredientes estabelecida previamente.

Tabela 1: Proporção dos ingredientes e composição químico-bromatológica das dietas experimentais.

Ítems	Nível de inclusão da glicerina, %	
	5	15
Ingredientes, g.kg ⁻¹ da MS		
Silagem de Milho	932,00	824,99
Glicerina bruta	52,53	156,84
Uréia/sulfato de amônio	18,17	15,47
Composição químico-bromatológica, g.kg ⁻¹ da MS		
MO	942,61	938,06
PB	92,72	93,54
EE	27,97	32,42
FDNcp	487,36	431,43
CNF	57,39	61,94

Foram realizadas coletas totais de fezes e urina por três dias consecutivos entre o oitavo e 10º dia de cada período experimental, concomitantemente com a quantificação do consumo, para estimativa da digestibilidade da matéria seca (MS) e nutrientes.

Ao final de cada dia de coleta, as fezes foram pesadas, homogeneizadas e retiradas amostras de, aproximadamente, 250 gramas que foram, imediatamente, pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas, moídas em moinho de facas (1mm), sendo então elaborada uma amostra composta por animal, em cada período, com base no peso pré-seco total referente a cada dia de coleta.

Para evitar a contaminação no piso das baias e das fezes com a urina, funis coletores foram acoplados aos animais durante o período de coleta de fezes.

As amostras de silagem de milho e fezes foram analisadas no Laboratório de Nutrição Animal do DZO/UFV quanto aos seus teores de MS, matéria mineral (MM), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE), seguindo as recomendações da AOAC (1990). Para as análises de fibra em detergente neutro (FDN), as amostras foram tratadas com alfa amilase termo estável, sem a utilização de sulfito de sódio e corrigidos para cinzas e proteínas, de acordo com as recomendações de Licitra et al. (1996) e Mertens (2002).

À exceção das análises de PB e cinzas, que foram realizadas conforme descritos acima e de FDNcp, que não foram realizadas, devido a não existência da mesma em sua constituição, as demais análises para caracterizar a glicerina avaliada foram realizadas no Laboratório de Análises Químicas da UFV e em um Laboratório Comercial.

O teor de ácidos graxos totais, metanol e glicerol na glicerina foram obtidos por cromatografia gasosa em cromatógrafo a gás, modelo GG 17^a marca SHIMADZU com detector FID. Foi utilizada a coluna capilar carbowax (30 m x 25 mm). Para separação cromatográfica, 1 µL de amostra foi injetado com auxílio de uma seringa de 10µL (Hamilton[®]) sistema Split = 10. O gás nitrogênio foi utilizado como carreador com velocidade linear programada para 26,4 cm.s⁻¹ e o gás hidrogênio e ar sintético foram a chama do detector. As temperaturas do injetor e o detector foram de 280°C e 300°C, respectivamente. A temperatura inicial da coluna foi de 40 °C (mantida por 7 minutos), aumentando 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 de gás de arraste na coluna foi de 1,09 mL/minuto. A identificação dos teores de ácido graxos totais,

metanol e glicerol se deu através do tempo de retenção no padrão correspondente. O cloreto de sódio foi analisado de acordo com a metodologia analítica AOCS Ea2 – 38.

Os carboidratos não fibrosos (CNF) nas dietas foram calculados de acordo com o proposto por Hall (2000), sendo $CNF = 100 - ((\%PB - \%PB \text{ derivada da ureia} + \% \text{ ureia na dieta}) + \%FDNcp + \%EE + \%MM)$. O consumo de nutrientes digestíveis totais (NDT), foi estimado a partir da equação recomendada pelo NRC (2001): $NDT = PBD + 2,25 \times EED + CNFD + FDNCPd$, sendo que PBD, EED, CNFD e FDNcpD significam, respectivamente, proteína bruta digestível, extrato etéreo digestível, carboidratos não fibrosos digestíveis e fibra em detergente neutro, corrigida para cinzas e proteínas, digestível, calculados a partir dos coeficientes de digestibilidade obtidos nesse mesmo estudo.

Os teores de energia digestível (ED) e energia metabolizável (EM) foram calculados de acordo com o proposto pelo NRC (2001), em que:

$$ED = PBD \times 5,6 + EED \times 9,4 + CNFD \times 4,2 + FDNcpD \times 4,2$$

$$EM = 1,01ED - 0,45$$

expressas em Mcal.kg^{-1} .

Para obtenção da estimativa da digestibilidade da MS (DMS), da matéria orgânica (DMO), NDT, ED e EM da glicerina bruta e da silagem de milho foram utilizados sistemas de duas equações matemáticas simples.

$$\begin{cases} PN = 0,05x + 0,95y \\ PN = 0,15x + 0,85y \end{cases}$$

em que: 0,05 e 0,15 são as proporções de glicerina nas duas dietas testadas dentro de cada quadrado latino, 0,95 e 0,85 as proporções de volumoso e PN é o valor encontrado para a respectiva dieta do parâmetro nutricional que se pretendeu prever.

Deste modo, através da interpolação das duas equações, obteve-se um valor do parâmetro desejado em cada um dos quatro quadrados latinos em cada período, totalizando-se oito médias.

As estimativas dos parâmetros nutricionais obtidos foram analisadas por meio de estatística descritiva, obtendo-se média e desvio padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição química da glicerina está apresentada na Tabela 2 e o padrão mínimo de qualidade para alimentação animal exigido no Brasil encontra-se na Tabela 3.

Tabela 2: Características químicas e de composição da glicerina bruta

Ítems	Composição químico-bromatológica, g.kg ⁻¹	
	Base da matéria seca	Base da matéria natural
Matéria seca	-	894,6
Matéria Orgânica	899,3	804,5
Proteína Bruta	1,8	1,6
Ácidos Graxos Totais	69,4	62,1
Carboidratos Não-fibrosos	828, 1	740,8
Glicerol	805,5	720,6
Cinzas	100,7	90.1
Cloreto de Sódio	88,2	78,9
Metanol, mg.kg ⁻¹	160,0	143,14
Densidade, g.cm ³	-	1,29

Sob o ponto de vista do padrão de qualidade, a glicerina avaliada não atendeu às exigências do MAPA. Considerando-se que a glicerina bruta tem 894,6 g.kg⁻¹ de matéria seca (105.4 g.kg⁻¹ de umidade), e 90.09 g.kg⁻¹ de matéria mineral (100,7 g.kg⁻¹, transformados para base da matéria natural - MN), restam 804,51 g.kg⁻¹ para outros constituintes, glicerol e ácidos graxos, principalmente. A concentração de glicerol na MN (720.6 g.kg⁻¹) ficou aquém do valor mínimo estabelecido pelo MAPA é de 800 g.kg⁻¹ (Tabela 3).

Tabela 3: Padrão de qualidade da glicerina bruta para alimentação animal (MAPA, 2010)

Composto	Limite	Valor (base da matéria natural)
Glicerol	Valor Mínimo	800 g.kg ⁻¹
Umidade	Valor Máximo	130 g.kg ⁻¹
Metanol	Valor Máximo	150 mg.kg ⁻¹
Sódio	Valor máximo garantido pelo fabricante	-
Matéria Mineral	Valor máximo garantido pelo fabricante	-

Fonte: Departamento de Fiscalização dos Insumos Pecuários (MAPA)

Os baixos valores de glicerol, além de impedir o registro para comercialização do produto (exigidos pelo MAPA), também podem reduzir o valor energético e o potencial gliconeogênico da glicerina bruta.

Mesmo as concentrações de metanol (143,14 mg.kg⁻¹) tendo atendido as exigências supracitadas, o alto risco à saúde associado ao consumo do metanol, decorrente da inclusão de glicerina bruta na dieta, é esperado somente em animais não-ruminantes, pois, para os ruminantes, o metanol já é naturalmente produzido no rúmen como resultado da fermentação da pectina, conforme Pol & Demeyer (1988). Estes autores também trabalharam com infusão contínua de solução de metanol (1 mol. L⁻¹) a uma taxa de 19 mL h⁻¹ no rúmen de ovinos e observaram que o metanol foi convertido em metano.

O teor de ácidos graxos (AG) e de cloreto de sódio podem representar uma limitação zootécnica quanto ao uso da glicerina bruta, se não considerados na formulação das rações dos animais. Adicionalmente, a maior presença de AG na glicerina representa ineficiência do sistema em recuperar os lipídeos para produção do biodiesel, isto é, um problema sob o ponto de vista da agroindústria e não do alimento em si. Primeiramente, porque o conteúdo de glicerol, bem como dos demais constituintes, não representa, necessariamente, uma limitação sob o ponto de vista nutricional, e sim fiscal. Além disso, os limites estabelecidos devem ser determinados a

partir de pesquisas científicas e estratificados quanto às espécies animais potencialmente utilizadoras de glicerina.

Em relação à caracterização energética da glicerina (Tabela 4), quando se comparam os resultados obtidos nesse estudo com os valores sugeridos por Valadares et al. (2010), para os principais alimentos energéticos utilizados na nutrição de ruminantes – milho moído, sorgo e farelo de trigo – verifica-se que a glicerina bruta apresentou maior digestibilidade da MS que o sorgo e o farelo de trigo. Esses autores citaram 920,8; 693,5 e 676,0 g.kg⁻¹, respectivamente, para o milho, sorgo e farelo de trigo, como média do conteúdo digestível da MS, enquanto nessa pesquisa obteve-se 870,24 g.kg⁻¹ para a glicerina bruta.

Tabela 4: Valores médios de digestibilidade aparente observada da matéria seca e matéria orgânica e valor energético da glicerina

Itens ¹	Alimentos	
	Silagem de Milho	Glicerina
DMS g.kg ⁻¹	668,81 ± 44,83	870,24 ± 143,76
DMO g.kg ⁻¹	687,50 ± 42,94	860,32 ± 145, 15
NDT, g.kg ⁻¹	707,21 ± 49,07	934,46 ± 139,18
ED, Mcal.kg ⁻¹	3,04 ± 0,18	4,01 ± 0,59
EM, Mcal.kg ⁻¹	2,65 ± 0,18	3,64 ± 0,60

¹/DMS = digestibilidade da matéria seca; DMO = digestibilidade da matéria orgânica; NDT = teor de nutrientes digestíveis totais; ED = energia digestível; EM = energia metabolizável.

A digestibilidade da matéria seca (DMS) da glicerina bruta mostrou-se ligeiramente maior que a digestibilidade da matéria orgânica (DMO) provavelmente devido à maior absorvibilidade da fração mineral, principalmente do NaCl. O NRC (2001) sugere que a absorção desse mineral é de 100%.

No que se refere aos teores energéticos, a glicerina bruta aparentou ser superior ao milho, sorgo e farelo de trigo. Valadares Filho et al. (2010) propõem valores na ordem de 858,3; 788,0 e 715,4 g.kg⁻¹ de NDT para o milho moído, sorgo e farelo de trigo, respectivamente, enquanto no presente trabalho encontrou-se NDT na ordem de 934,5 g.kg⁻¹. Isso sugere que, mesmo com teores de glicerol abaixo do estabelecido pelas exigências do MAPA, a glicerina contribuiria com mais energia por unidade de MS que os alimentos convencionais.

Kerr et al. (2007), a partir do trabalho de Bartlet & Schneider (2002), sumarizaram que a energia metabolizável da glicerina observada em frangos de corte, galinhas poedeiras e suínos foi, em media, 3,99; 3,93 e 3,29 Mcal.kg⁻¹. Trabalhando com bovinos em terminação, Mach et al. (2009) estimaram 3,47 Mcal.kg⁻¹ para o valor da energia metabolizável da glicerina utilizada (86% de glicerol). Estes dados deixam claro que, independente da espécie usada e da quantidade testada, o valor de EM da glicerina oscila em torno dos 3,7 Mcal.kg⁻¹.

CONCLUSÃO

Apesar de não atender todas as exigências estabelecidas pelo MAPA para ser utilizada na alimentação animal, a glicerina bruta apresenta teor de energia satisfatório como ingrediente para ração de bovinos, com valores de 934,5 g.kg⁻¹ de NDT e 3,64 Mcal.kg⁻¹ de EM por quilo de matéria seca.

LITERATURA CITADA

- Association of Official Analytical Chemisty (AOAC). 1990. Official Methods of Analysis, 15th ed. AOAC International, Arlington, VA.
- Food and Drug Administration (FDA). 2006. Code of Federal Regulations, 21CFR582.1320.Title21, v.6.
- Hall, M.B., 2000. Calculation of non-structural carbohydrate content of feeds that contain non-protein nitrogen. Tech. Bull. No. 339. University of Florida. P.A-25.
- Kerr, B.J, Dozier, W.A., Bregendahl, K., 2007. Nutritional Value of Crude Glycerin for Nonruminants. In: Proceedings of 23rd Annual Carolina Swine Nutrition Conference, Raleigh, North Carolina, pp. 6-18.
- Lammers, P.J, Kerr, B.J. Honeyman, M.S et al., 2008. Nitrogen-corrected apparent metabolizable energy value of crude glycerol for laying hens. Poult. Sci. 87:104–107.

- Licitra, G., Hernandez, T.M., Van Soest, P.J. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, v.57, n.4, p.347-358.
- Mach, N., A. Bach, and M. Devant. 2008. Effects of crude glycerin supplementation on performance and meat quality of Holstein bulls fed high-concentrate diets. *J. Anim. Sci.* 87:632-638.
- Mertens, D.R. 1992. Análise da fibra e sua utilização na avaliação e formulação de rações. In: Simpósio Internacional de Ruminantes, Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 29, Lavras. Anais... Lavras: SBZ, 1992. p.188.
- National Research Council - NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th ed. National Academy Press, Washington, DC. 381p.
- Rivaldi, J.D.; Sarroub, B.F.; Fiorilo, R.; et al. 2007. Glicerol de biodiesel: Estratégias biotecnológicas para o aproveitamento do glicerol gerado da produção de biodiesel. *Biotecnologia, Ciência e Tecnologia*, v.37, p.44-51.
- Valadares Filho, S.C.; M. I. Marcondes, M.L. Chizzotti and P.V.R. Paulino. 2010. Exigências nutricionais de puros e cruzados. BR-CORTE. 2.ed. – Viçosa : UFV, DZO, 193p.
- Veronese, V.B., Barrios, S.B., Dall'alba, K., et al. 2009. Glicerina: materia-prima para preparacao de adesivos e espumas poliuretanicas a resinas aquidicas. In: III Congresso Da Rede Brasileira De Tecnologia Do Biodiesel. Anais... Brasilia-DF.

Capítulo II

Avaliação Nutricional de Bovinos de Corte em Terminação Alimentados com Glicerina Bruta na dieta

RESUMO: Cinco bovinos mestiços (Nelore x Red Angus), não-castardos, com peso inicial médio de $346 \pm 21,42$ kg, fistulados no rúmen e abomaso, foram distribuídos em um quadrado latino 5 x 5, com objetivo de avaliar o efeito de inclusão da glicerina bruta em substituição ao milho em dietas de bovinos de corte terminados em confinamento, sobre o consumo, digestibilidade aparente total e parcial da matéria seca e dos nutrientes, cinética de passagem e digestão ruminal, pH, concentrações ruminais de amônia e ácidos graxos voláteis (AGV), estimativa da produção microbiana e excreção de compostos nitrogenados na urina. A alimentação basal foi composta por 50% de silagem de milho e o restante do concentrado à base de milho e farelo de soja. Os tratamentos consistiram de cinco níveis de substituição do milho do concentrado por uma mistura de glicerina e glúten de milho, em que a glicerina compunha 0, 5, 10, 15 e 20% da matéria seca da dieta. Foram utilizados cinco períodos experimentais com 15 dias cada, sendo sete para adaptação e oito para coletas. Com exceção do consumo de EE, não houve efeito ($P>0,05$) da glicerina sobre o consumo de MS e demais nutrientes. A inclusão de glicerina aumentou ($P<0,05$) a digestibilidade da MS, MO, FDNcp, EE e CNF, resultando em aumento no NDT, ED e EM das dietas. A taxa de passagem da digesta ruminal não foi afetada ($P>0,05$) pelos níveis de glicerina, mas as taxas de digestão da MS, MO e FDNcp aumentaram ($P<0,05$). O pH e as concentrações dos AGV também não foram afetadas ($P>0,05$), no entanto, a concentração de amônia reduziu linearmente ($P<0,05$) e a proporção de propionato aumentou com a inclusão de glicerina bruta ($P<0,05$). Não foram observadas diferenças para síntese e eficiência microbiana e excreção de compostos nitrogenados na urina. A glicerina bruta pode substituir o milho até 20% da MS em dietas de bovinos cruzados de corte em terminação.

Palavras chave: gliconeogênese, sistema de dois indicadores, taxa de digestão, taxa de passagem.

Nutritional Evaluation of Crude Glycerin to Finishing Cattle

ABSTRACT: Five crossbred bulls were used, with 346 ± 21.42 kg of body weight cannulated in the rumen and abomasum. The experimental design was Latin Square 5 x 5 (five periods and five treatments). Each experimental period had duration of 15d, seven days to adaptation and eight to the collections. Animals were fed a basal diet based containing 50% corn silage and 50% concentrate, in dry matter basis (DM). It was used five diets with five levels of crude glycerin inclusion (0, 5, 10, 15 and 20%DM). Corn was replaced by an equivalent amount of food grade glycerin and corn gluten feed. This study was conducted aiming to evaluate the effect of replacing corn by crude glycerin on feed intake, ruminal and total digestibility, ruminal digestion and passage rate, fermentation characteristics, protein efficiency, microbial protein yield and urinary nitrogenous excretion. Only the EE intake was increased ($P < 0.05$) by crude glycerin inclusion. Except crude protein (CP) total digestibility, there were effects of glycerin level ($P < 0.05$) on other digestibilities constituents. Thus the diets energy values were increased ($P < 0.05$) by glycerin. Passage rate did not differ among the treatments ($P > 0.05$) but digestion rate of DM, OM and NDFap were linearly increased ($P < 0.05$). No differences ($P > 0.05$) in ruminal pH and volatile fatty acid concentration were observed, however ammonia concentration decreased ($P < 0.05$) among glycerin levels. There was no effect ($P > 0.05$) of crude glycerin levels on protein efficiency, microbial protein yield and urinary nitrogenous excretion. Crude glycerin can replace corn up to 20%DM in diets in finishing diets of finishing beef cattle.

Key words: digestion rate, gluconeogenic feed, passage rate, two markers' system.

INTRODUÇÃO

A glicerina bruta, co-produto proveniente da indústria do biodiesel, apresenta cerca de 80-90% de glicerol, água, cinzas (principalmente NaCl), ácidos graxos livres e traços de metanol e proteínas (Kerr et al., 2009). Devido à expansão da indústria do biodiesel e seu valor energético ou efeito gliconeogênico, o interesse em seu uso na nutrição de ruminantes tem se tornado cada vez maior. A glicerina bruta, aliada à histórica busca dos pesquisadores e produtores por fontes energéticas alternativas e de menor custo para substituir as fontes tradicionais, como o milho, pode ser considerada um co-produto potencial a ser incluído em dietas, principalmente, de bovinos terminados em confinamentos.

Segundo Donkin (2008), o glicerol não é um carboidrato, porém é fermentado no rúmen a ácidos graxos de cadeia curta. Os estudos têm mostrado que o glicerol é rapidamente fermentado a propionato (potencial gliconeogênico) no rúmen, mas que os resultados quanto à taxa de fermentação e produção de ácidos graxos voláteis são bastante contraditórios (Rémond et al., 1993; El-Nor et al., 2010; Krueger et al., 2010 e Lee et al., 2011).

Por conta disso, os trabalhos iniciais com glicerina recomendaram a sua utilização em dietas de vacas leiteiras de alta produção, na prevenção da cetose (Johnson et al., 1954) por aumentar o suprimento de precursores da glicose (Fisher et al., 1971; Sauer et al., 1973).

Recentemente, a maior parte dos trabalhos disponíveis na literatura tem avaliado a fermentação ruminal do glicerol *in vitro* (Rémond, et al., 1993; DeFrain et al. 2004; Trabue et al., 2007; Ferraro et al., 2009, El-Noir et al., 2010). No entanto, estes trabalhos desconsideram que parte desse glicerol pode ser absorvido pelo epitélio ruminal e metabolizado a glicose no fígado (Donkin, 2008), e que seria a maior contribuição energética e/ou gliconeogênica desse composto.

Tais fatos tornam evidente a carência de mais estudos que avaliem a glicerina como alimento e suas propriedades nutricionais na alimentação animal para determinar um nível ótimo de inclusão. Assim, este trabalho foi desenvolvido com o intuito de avaliar o efeito da inclusão da glicerina bruta em substituição parcial ao milho sobre os

parâmetros nutricionais: consumo, digestibilidade aparente total e parcial da matéria seca de dos nutrientes, cinética de passagem e digestão ruminal, fermentação ruminal, síntese e eficiência de síntese microbiana e excreção de compostos nitrogenados em dietas de bovinos de corte terminados em confinamento.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Animais do Departamento de Zootecnia (DZO) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG, Brasil. Sendo todos os procedimentos utilizados aprovados pelo Comitê de Ética para uso de Animais da UFV, segundo o processo 42/2010.

Animais, Delineamento experimental e Dietas

Foram utilizados cinco bovinos, machos não castrados, cruzados (Red Angus x Nelore), fistulados no rúmen e abomaso, segundo a técnica descrita por Leão & Coelho da Silva (1980), com peso corporal inicial médio de $346 \pm 21,42$ kg e idade de 18 meses. Os animais foram mantidos em regime de confinamento do tipo *tie stall*, alojados em baias individuais, cobertas, com piso de concreto revestido de borracha, com área de 9 m² e dotados de comedouros de alvenaria e bebedouros automáticos.

O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 5×5, sendo cinco animais, cinco períodos experimentais e cinco tratamentos. Cada período experimental teve duração de 15 dias, dos quais sete dias foram destinados à adaptação dos animais aos tratamentos (dietas) e os oito restantes às coletas.

Os cinco tratamentos avaliados foram definidos de forma a testar níveis de inclusão da glicerina bruta oriunda da indústria do biodiesel em dietas de bovinos de corte em confinamento. Desta forma, foram testados níveis crescentes de 0, 5, 10, 15 e 20 % de glicerina bruta na matéria seca total da dieta. Para que isso fosse possível, o milho da dieta foi proporcionalmente substituído por uma mistura de glicerina bruta + glúten de milho, numa proporção de 0,85:0,15, de forma a manter as dietas isoprotéicas e com quantidades similares de proteína advinda do milho, conforme sugerido por Donkin (2008). As dietas experimentais foram formuladas de forma a serem isoprotéicas para atender as exigências nutricionais de bovinos mestiços não

castrados, de peso corporal médio de 413 kg e ganho médio diário estimado em 1,5 kg/dia, segunda as recomendações de Valadares Filho et. al. (2010). As dietas experimentais e a composição dos ingredientes da dieta encontram-se apresentadas nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 – Proporção dos ingredientes e composição químico-bromatológica das dietas experimentais.

Ítems	Glicerina, % da Matéria Seca				
	0	5	10	15	20
Ingredientes, % da Matéria Seca					
Silagem de Milho	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00
Farelo de Soja	7,15	7,15	7,15	7,15	7,15
Milho Moído	40,70	34,80	29,00	23,10	17,20
Mistura Mineral ¹	0,50	0,50	0,50	0,60	0,70
Ureia/sulfato de amônio	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Glicerina	0,00	5,00	10,00	15,00	20,00
Glúten de Milho	0,00	0,90	1,70	2,55	3,40
Calcario	0,65	0,65	0,65	0,60	0,55
Composição bromatológica, % da Matéria Seca					
Matéria Orgânica	96,12	95,68	95,24	94,81	94,37
Proteína Bruta	13,10	13,17	13,19	13,24	13,28
Extrato Etéreo	3,16	3,30	3,43	3,57	3,70
FNDcp ²	32,07	31,37	30,69	29,99	29,29
Carboidratos Não-fibrosos	51,31	51,35	51,45	51,53	51,61
Glicerol	0,00	4,03	8,05	12,08	16,11

¹/ Composição: 41.66 % de fosfato bicálcico; 56.79% de cloreto de sódio; 0.20% de sulfato de cobre; 1.19% de sulfato de zinco; 0.03% de iodato de potássio; 0.05% de sulfato de cobalto; 0.08% de selenito de sódio. Composição do mineral (por kg): 31.5g P; 31g S; 95g Na; 50g Mg; 1200 mg Mn; 3000 mg Zn; 600mg Fe; 600 mg cobre; 36mg I; e 10mg Se.

²/ Fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína.

Tabela 2 – Composição bromatológica e química dos ingredientes da dieta

Ingredientes	Composição bromatológica, g.kg ⁻¹ da Matéria Seca					
	MO	CNF	PB	FDNcp	EE	Cz
Silagem de Milho	944,50	328,02	67,88	522,50	26,10	55,50
Farelo de Soja	933,84	270,40	515,30	132,34	15,80	66,16
Milho Moído	984,74	729,58	90,00	123,96	41,20	15,26
Mistura Mineral	-	-	-	-	-	1000,00
Ureia/SA ¹	-	-	2510,00	-	-	-
Glicerina	899,30	827,80	1,80	-	69,40	100,70
Glúten de Milho	975,04	216,64	666,20	58,90	33,30	24,96
Calcario	-	-	-	-	-	1000,00

1/ ureia e sulfato de amônio na proporção 9:1

A glicerina bruta foi adquirida de uma agroindústria de biocombustíveis, localizada na região de Anápolis, GO. O produto foi obtido pelo processo de transesterificação do óleo vegetal de soja para a produção do biodiesel.

Procedimentos experimentais e amostragens

A alimentação foi fornecida na forma de ração completa, à vontade, ajustada para permitir, aproximadamente, 10% de sobras, sendo fracionada em duas porções de 70 e 30% do peso ofertado total, as quais foram fornecidas diariamente às 08h00 e 16h00.

Para quantificação e avaliação do consumo voluntário de matéria seca (MS) e demais constituintes das dietas foram considerados os alimentos fornecidos entre o sétimo e o 10º dia de cada período experimental, sendo as sobras computadas entre o oitavo e o 11º dia. As amostras do volumoso e ingredientes do concentrado ofertado e as sobras obtidas foram processadas em moinho de facas (1 mm), acondicionadas em potes plásticos e armazenadas para posterior análise.

Foram realizadas coletas totais de fezes e urina por três dias consecutivos entre o oitavo e 10º dia de cada período experimental, concomitantemente com a quantificação do consumo, para estimativa da digestibilidade da MS e nutrientes e da excreção dos compostos urinários.

Ao final de cada dia de coleta, as fezes foram pesadas, homogeneizadas e retiradas amostras de, aproximadamente, 250 gramas que foram, imediatamente, pesadas e pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas, moídas em moinho de facas (1 mm), sendo então elaborada uma amostra composta por animal, em cada período, com base no peso pré-seco total referente a cada dia de coleta.

A coleta de urina foi realizada com auxílio de funis coletores acoplados aos animais, dotados de mangueiras plásticas que conduziam a urina até galões contendo 250 mL de solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) a 20% v/v, para evitar perdas dos compostos nitrogenados. Após cada dia de coleta, o volume de urina foi mensurado, sendo em seguida, homogeneizada e retirada uma alíquota de 5% do volume diário. Ao final dos três dias de coleta foi confeccionada uma amostra composta, proporcional ao volume excretado por dia para cada animal. Essa amostra foi homogeneizada e então retirada uma alíquota de 10 mL de urina que foi diluída em 40 mL de ácido sulfúrico a 0,036 N, para evitar destruição bacteriana dos derivados de purinas urinários e precipitação do ácido úrico. Outra amostra de 50 mL de urina foi coletada sem diluição para determinação da ureia e nitrogênio total urinário. Ambas as amostras foram acondicionadas em potes plásticos e congeladas a -20°C para posteriores análises laboratoriais.

Durante os mesmos três dias de coleta total de fezes e urina, foram realizadas coletas de digesta abomasal para determinação da digestibilidade aparente dos constituintes das dietas no rúmen e intestinos dos animais. Para estimativa do fluxo abomasal foi utilizado o sistema duplo de indicadores através da associação entre cobalto - ácido etilenodiaminotetracético (Co-EDTA) para a fase líquida e de pequenas partículas com o dióxido de titânio (TiO_2) para fase de médias e grandes partículas.

Os animais receberam 10 gramas de TiO_2 , que foram acondicionados em cartuchos de papel e infundidos, via fistula ruminal, quatro horas após o arraçoamento durante oito dias. Tal procedimento iniciou-se a partir do quarto dia experimental, de

modo a permitir cinco dias de adaptação, e mais três durante o período de coletas. O Co-EDTA foi produzido conforme os procedimentos de Úden et al. (1980) e acondicionado em cartucho de papel para infusão, via fistula ruminal. Sua administração iniciou-se três dias antes do início das coletas e estendeu-se até o final da mesma. O Co-EDTA foi administrado em quatro doses, de um grama cada, com intervalos de seis horas e início duas horas antes do arraçoamento matinal, compreendendo o total de quatro gramas diárias (445,75 mg de Co).

As coletas da digesta abomasal foram realizadas em intervalo de 15 horas entre cada uma, utilizando-se o seguinte esquema: dia 8, coleta às 07:00 e 22:00h; dia 9, coleta às 13:00h; dia 10, coleta às 04:00 e 19:00h; e dia 11, coletas às 10:00h. Após a coleta, as amostras foram imediatamente processadas, sendo filtradas através de uma camada de tecido de algodão, separando-se a amostra em duas fases: líquido filtrado que constituiu a fase líquida e de pequenas partículas e o resíduo retido, a fase de médias e grandes partículas. As amostras das diferentes fases da digesta abomasal foram secas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 96 horas, moídas em moinho de bola, sendo realizada uma amostra composta por fase da digesta, por animal em cada período e armazenadas em frascos para posteriores análises.

As coletas de líquido ruminal, visando a determinação do pH e das concentrações do nitrogênio amoniacal (N-NH_3) foram realizadas no 11º dia de cada período experimental, imediatamente antes do fornecimento matinal da dieta e duas, quatro e seis horas após. Foram coletados, por intermédio da fístula ruminal e na cavidade do saco cranial ventral do rúmen (Duffield et al., 2004), aproximadamente 50 mL de líquido, procedendo-se a imediata determinação do pH em peagâmetro digital. Após a leitura do pH, foi adicionado, a cada amostra, 1 mL de H_2SO_4 50% v/v, que foi armazenada a - 20°C, para posterior quantificação das concentrações de N-NH_3 .

Simultaneamente às coletas de líquido ruminal para mensuração de pH e N-NH_3 , foi coletada uma segunda alíquota de 50 mL para avaliação das concentrações de ácido graxos (AGV) que foi armazenada em frascos hermeticamente fechados e congelados a - 20°C até posterior análise.

No dia 12 de cada período experimental, foi realizado o esvaziamento total do rúmen, quatro horas após o fornecimento matinal da dieta - máximo volume teórico da

digesta - com intuito de determinar a taxa de passagem e de digestão dos nutrientes, conforme técnica descrita por Allen & Linton (2007). Após o esvaziamento de todo conteúdo ruminal, a digesta total foi pesada e filtrada em tecido de algodão para separação da porção sólida e líquida, as quais foram pesadas e amostradas separadamente. Logo após a amostragem, a digesta foi reconstituída, através da mistura das duas porções, e recolocada no rúmen dos respectivos animais. No dia 13 de cada período experimental, houve uma pausa para descanso e realimentação dos animais e no dia 14 retomaram-se as coletas, realizando o mesmo procedimento de esvaziamento ruminal. Porém antes do primeiro fornecimento diário da dieta, ou seja, no momento em que, em teoria, o rúmen se encontrava com o menor volume de digesta. As amostras coletadas em ambos os dias foram pesadas e levadas a estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas, moídas em moinhos de facas (1mm) sendo então, confeccionadas amostras compostas, proporcionais a cada porção da digesta. Desta forma, foram obtidas duas amostras compostas (zero e quatro horas após a alimentação) para cada animal, em cada período.

Simultaneamente ao procedimento de esvaziamento total do rúmen foram coletadas no 12º dia do período experimental e quatro horas após a alimentação, amostras de líquido ruminal para realização dos procedimentos de isolamento de microrganismos, conforme a metodologia descrita por Cecava et al. (1990).

Durante o último dia experimental (dia 15), quatro horas após o primeiro fornecimento da ração, foi coletada uma amostra de sangue, via punção na veia jugular, utilizando-se tubos de ensaio contendo gel separador e acelerador de coagulação. As amostras foram imediatamente centrifugadas a 2700 G por 20 minutos, obtendo-se o soro sanguíneo que foi armazenado em eppendorffs e congelado a -20°C para posterior análise para determinação da concentração do nitrogênio uréico.

Análises químicas

As amostras de silagem de milho, ingredientes do concentrado, sobras, fezes, conteúdo ruminal e as diferentes fases da digesta abomasal foram analisadas no Laboratório de Nutrição Animal do DZO/UFV quanto aos seus teores de MS, matéria mineral (MM), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE),

seguindo as recomendações da AOAC (1990). Para as análises de fibra em detergente neutro (FDN), as amostras foram tratadas com alfa amilase termo estável, sem a utilização de sulfito de sódio e corrigidas para cinzas e proteínas, de acordo com as recomendações de Mertens (2002) e Licitra et al. (1996).

O teor de ácidos graxos totais da glicerina foi obtido por cromatografia gasosa em cromatógrafo a gás, modelo GG 17^a marca SHIMADZU com detector FID. Foi utilizada coluna capilar carbowax (30 m x 25 mm). Para separação cromatográfica, 1 µL de amostra foi injetado com auxílio de uma seringa de 10µL (Hamilton[®]) sistema Split = 10. O gás nitrogênio foi utilizado como carreador com velocidade linear programada para 26,4 cm.s⁻¹ e o gás 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 a 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 de gás de arraste na coluna foi de 1,09 mL/minuto. A identificação se deu através do tempo de retenção em comparação ao padrão.

Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados de acordo com o proposto por Hall (2000), sendo $CNF = 100 - ((\%PB - \%PB \text{ derivada da ureia} + \% \text{ ureia na dieta}) + \%FDNcp + \%EE + \%MM)$. O consumo de nutrientes digestíveis totais (NDT), foi estimado a partir das equações recomendadas pelo NRC (2001): $NDT = PBD + 2,25 \times EED + CNFD + FDNcpD$, sendo que PBD, EED, CNFD e FDNcpD significam, respectivamente, proteína bruta digestível, extrato etéreo digestível, carboidratos não fibrosos digestível e fibra em detergente neutro, corrigida para cinzas e proteínas, digestível, calculados a partir dos coeficientes de digestibilidade obtidos nesse mesmo estudo.

Os teores de energia digestível (ED) e energia metabolizável (EM) foram calculados de acordo com o proposto pelo NRC (2001), em que:

$$ED = PBD \times 5,6 + EED \times 9,4 + CNFD \times 4,2 + FDNcpD \times 4,2$$

$$EM = 1,01ED - 0,45$$

expressas em Mcal.kg⁻¹.

As amostras de digesta abomasal também foram submetidas à análise de teor de cobalto (Co) e titânio (Ti). As concentrações de Co foram avaliadas em espectrofotômetro de absorção atômica, conforme descrito por Savastano (1993), utilizando-se digestão nitroperclórica e as de Ti segundo Myers et al. (2004).

O cálculo do fluxo de MS do abomaso foi realizado conforme equação descrita por France & Siddons (1986), para sistema de duplo indicador. Para isso, considerou-se como indicadores de fase líquida o Co-EDTA e de fase sólida o TiO₂:

$$RF = (CTi,X/I_{Ti} - CCo,X/ICo)/(CCo,F/ICo - CTi,F/ITi)$$

$$F_D = I_{Co}(1 + R_F)/(C_{Co,X} + R_F C_{Co,F})$$

em que R_F é o fator de reconstituição, I_{Co} e I_{Ti} são as quantidades diárias infundidas (Co = mg.dia⁻¹ e TiO₂ = g.dia⁻¹), C_{Co,X} = concentração do indicador de fase líquida e pequenas partículas na amostra da digesta não representativa (X), C_{Co,F} = concentração do mesmo indicador no resíduo do filtrado, (F), C_{Ti,X} = concentração do indicador de fase sólida na amostra de fase sólida, C_{Ti,F} = concentração do mesmo indicador no resíduo de fase líquida.

Para o cálculo da digestibilidade total da MS e dos nutrientes foi determinado a quantidade média consumida de MS e nutrientes durante os dias em que se mediu o consumo e a média excretada via fezes. Para calcular o coeficiente de digestibilidade ruminal, utilizou-se a quantidade média consumida e o fluxo médio estimado de MS e nutrientes no abomaso. Para o cálculo da digestibilidade intestinal, utilizou-se o fluxo de MS seca e nutrientes no abomaso e a quantidade excretada nas fezes de cada nutriente.

As taxas de passagem (kp) foram calculadas através do método “*pool-and-flux*”, descrito por Allen & Linton (2007), de acordo com a seguinte equação:

$$kp = \text{fluxo abomasal} / \text{pool ruminal}$$

em que kp = taxa de passagem do alimento (%.h⁻¹), fluxo abomasal = quantidade de MS no abomaso (kg.h⁻¹) e pool ruminal = quantidade total média de MS ruminal (kg).

A taxa de digestão (kd) foi calculada em função da taxa de passagem e da quantidade ingerida por hora, utilizando-se a equação:

$$k_d = k_i - k_p$$

em que k_i = consumo / pool ruminal.

A k_d para cada nutriente foi calculada utilizando-se as mesmas equações e usando quantidade de cada nutriente específico em cada variável.

As concentrações de nitrogênio amoniacal no líquido ruminal foram obtidas segundo método colorimétrico descrito por Chaney & Marbach (1962) e adaptado pelo Laboratório de Microbiologia de Anaeróbios - UFV (Oliveira, 2003).

Para a quantificação de AGV, alíquotas de 2 mL de cada amostra de líquido ruminal foram retiradas, as quais adicionou-se 1 mL de ácido metafosfórico 20% v/v. Em seguida, foram centrifugadas a 17000 g, por 15 minutos, sendo o sobrenadante utilizado para leitura das concentrações. As leituras de AGV foram realizadas em Cromatógrafo Líquido de Alta Performance (HPLC), marca SHIMADZU SPD-10 A VP, com detector ultravioleta (UV) e em comprimento de onda de 210 nm. A coluna usada foi C18 (fase reversa). Utilizou-se ácido fórmico 0,1% em água como fase móvel, com fluxo de 1,5 mL/minuto, pressão da coluna de 168 kgf e volume injetado de 20 µL.

Nas amostras de urina diluída, foram realizadas as análises dos derivados de purinas (alantoína e ácido úrico), onde a alantoína foi quantificada pelo método colorimétrico, conforme técnica de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen & Gomes (1992) e o ácido úrico pelo método enzimático, usando kits comerciais (Labtest Diagnostic S.A., Lagoa Santa, Brasil). A excreção de derivados de purinas (DP) na urina em 24 horas foi calculada multiplicando-se o volume urinário em 24 horas pela concentração dos DP na amostra de urina da coleta total. As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas na urina (DP, mmol/dia), por intermédio da equação:

$$Pabs = (DP - 0,301 \times PV^{0,75})/0,80$$

em que 0,80 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados urinários de purinas e $0,301 PV^{0,75}$, a contribuição endógena para a excreção de purinas (Barbosa et al., 2011).

O fluxo intestinal de compostos nitrogenados microbianos (Nmic, g N/dia) foi calculado em função das purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia), utilizando-se a equação:

$$Nmic = (70 \times Pabs) / (0,93 \times (N\text{-purina:Ntotal}) \times 1000),$$

em que 70 representa o conteúdo de N nas purinas (mg N/mmol); 0,93, a digestibilidade das purinas microbianas (Barbosa et al., 2011) ; relação N purinas:N total obtida após análise do isolado dos microrganismos ruminais.

No soro sanguíneo e na urina, foram avaliadas as concentrações de uréia, segundo o método diacetil modificado, kits comerciais (Labtest Diagnostic S.A., Lagoa Santa, Brasil). A concentração de N-uréico no soro (NUS) foi obtida pela concentração da uréia sérica, multiplicada por 0,466, correspondente ao teor de N na uréia.

A concentração total de nitrogênio na urina foi determinada pelo método de Kjeldahl, conforme descrito por Silva & Queiroz (2002).

Análises Estatísticas

Os dados foram analisados por intermédio da análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas através de contrastes ortogonais (linear e quadrático) para os níveis de inclusão de glicerina bruta. Todos os procedimentos foram realizados utilizando-se o procedimento PROC GLM SAS 9.0, por intermédio do programa *Statiscal Analysis System* (SAS, 2005), adotando-se 0,05 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I.

RESULTADOS

Consumo de matéria seca e nutrientes

Os consumos de MS, MO, PB, FDNcp, CNF, NDT e MS em função do PC não foram afetados ($P>0,05$) pelo nível de inclusão de glicerina bruta na dieta (Tabela 2). O consumo de NDT mostrou tendência ($P=0,0662$) de comportamento linear crescente com a inclusão da glicerina.

A ingestão de EE aumentou linearmente ($P<0,05$) com os níveis de inclusão de glicerina na dieta (Tabela 3). Tal fato decorreu da natural composição da dieta (Tabela 1), em que se verificou elevação dos teores de EE à medida que a glicerina (EE = 6,94%), % foi incorporada à dieta.

Tabela 3 – Consumo dos constituintes dietéticos por bovinos de corte alimentados com diferentes níveis de glicerina bruta

Ítems ¹	Inclusão de glicerina bruta na dieta (%MS)					EPM	P- Valor		
							Linear	Quadrático	
	0	5	10	15	20				
kg.dia ⁻¹									
MS	7.35	7.98	7.56	8.11	7.80	0.5520	0.2015	0.3329	
MO	7.07	7.65	7.22	7.70	7.37	0.5332	0.4028	0.3279	
PB	1.11	1.14	1.12	1.15	1.12	0.0945	0.7258	0.6749	
EE	0.25	0.27	0.28	0.30	0.30	0.0238	0.0007	0.3343	
FDNcp	2.29	2.43	2.30	2.40	2.28	0.1810	0.7951	0.3416	
CNF	3.88	4.19	3.94	4.22	4.05	0.3106	0.4260	0.4076	
NDT	5.87	6.42	6.11	6.77	6.53	0.5852	0.0662	0.5463	
MS, g.PC ⁻¹	18,58	20,40	19,22	20,92	19,43	1,3129	0,2936	0,0996	

¹/ MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; PB = proteína bruta; FDNcp = fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; EE = extrato etéreo; CNF = carboidratos não-fibrosos; NDT = nutrientes digestíveis totais.

Digestibilidade aparente total e parcial da matéria seca e dos nutrientes

A PB foi o único constituinte da dieta cuja digestibilidade não foi influenciada ($P>0.05$) pela inclusão de glicerina bruta na dieta ($758,1 \pm 63,11 \text{ g.kg}^{-1}$; Tabela 4). As digestibilidades da MS, MO, FDNcp, EE e CNF aumentaram linearmente ($P<0,05$) à medida que os teores de glicerina aumentaram na dieta (Tabela 4).

A consequência desse aumento na digestibilidade nos constituintes dietéticos foi a melhora dos valores energéticos das dietas nos níveis maiores de inclusão da

glicerina. Os valores de NDT, ED e EM mostraram-se linearmente crescentes ($P>0,05$). Esse resultado positivo nas médias do NDT dietético reforça a tendência de aumento na ingestão de NDT observado na Tabela 3.

Tabela 4 – Digestibilidade aparente total, teores de nutrientes digestíveis totais e energia digestível e metabolizável das dietas com diferentes níveis de glicerina bruta

Ítems ¹	Inclusão de glicerina bruta na dieta (%MS)					EPM	P-Valor	
							Linear	Quadrático
	0	5	10	15	20			
g.kg ⁻¹								
MS	719,3	744,5	747,2	782,9	793,6	26,2871	0,0003	0,9227
MO	738,2	763,2	764,1	797,8	807,1	26,6920	0,0007	0,9736
PB	719,6	760,7	739,7	784,3	786,0	52,2600	0,0560	0,8813
EE	734,3	754,4	760,5	792,2	802,5	28,0941	0,0009	0,8982
FDNcp	568,4	590,1	573,2	641,1	657,9	53,9469	0,0108	0,4228
CNF	863,3	871,9	890,3	893,5	900,3	22,1947	0,0102	0,6200
NDT	796,7	804,8	812,9	833,4	843,6	3,0505	0,0149	0,7503
Mcal.kg ⁻¹								
ED	3,45	3,49	3,52	3,61	3,66	0,1338	0,0167	0,7337
EM	3,04	3,07	3,11	3,20	3,24	0,1357	0,0153	0,7243

¹/MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; PB = proteína bruta; FDNcp = fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; EE = extrato etéreo; CNF = carboidratos não-fibrosos; NDT = nutrientes digestíveis totais; ED = energia digestível; EM = energia metabolizável.

A digestibilidade ruminal (DR) da MS e MO aumentou linearmente ($P>0,05$) com a inclusão da glicerina na dieta (Tabela 5). Porém, as digestibilidades ruminais da PB e FDNcp ficaram inalteradas ($P>0,05$), sugerindo que a glicerina apresenta desaparecimento ruminal maior que o milho. Por conta da ausência significativa desses dois constituintes (FDNcp e PB) na composição da glicerina bruta, esta deveria, portanto, influenciar somente a MS e MO.

A digestibilidade intestinal (DI) da MS e MO foi afetada ($P < 0,05$) pelos tratamentos. No entanto, diferentemente ao observado para digestibilidade ruminal, as médias apresentaram comportamento linear decrescente frente aos teores de glicerina adicionados às dietas (Tabela 5). A PB e a FDNcp digestível nos intestinos não diferiram ($P > 0,05$) entre os tratamentos (Tabela 5). Os resultados remetem à hipótese de que glicerol seja mais efetivamente degradado ou absorvido no rúmen e que a digestão do amido também tenha ocorrido de forma importante nos intestinos.

Tabela 5 – Digestibilidade parcial dos nutrientes em função da inclusão de glicerina bruta na dieta

Ítems ¹	Inclusão de glicerina bruta na dieta (%MS)					EPM	P-Valor	
							Linear	Quadrático
	0	5	10	15	20			

Ruminal, em g.kg ⁻¹								
DRMS ¹	697,8	713,4	762,2	773,3	769,4	33,9091	0,0012	0,2006
DRMO ¹	754,0	766,8	800,7	804,6	810,0	33,2083	0,0078	0,4342
DRPB ²	186,5	199,1	207,6	255,0	249,3	8,0749	0,1377	0,9865
DRFDNcp ¹	876,5	915,6	878,7	918,5	908,2	30,7064	0,1430	0,6738
Intestinal, em g.kg ⁻¹								
DIMS ¹	302,2	286,6	237,8	226,7	230,6	33,9091	0,0012	0,2006
DIMO ¹	246,0	233,2	199,3	195,4	190,0	33,2083	0,0078	0,4342
DIPB ²	654,7	685,1	670,2	702,5	708,8	6,9572	0,2259	0,9958
DIFDNcp ¹	123,5	84,4	121,3	81,5	91,8	30,7064	0,1430	0,6738

¹/MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; PB = proteína bruta; FDNcp = fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; expresso em g.kg⁻¹ do total digestível.

²/Expresso em g.kg⁻¹ da quantidade que chegou a cada compartimento.

O baixo valor médio para DI da FDNcp ($100,5 \pm 68,11$ g.kg⁻¹ da porção digestível) é consistente, considerando que o rúmen é o local de maior degradação

desse constituinte. Por outro lado, a maior média para PB digestível foi observada no intestino ($684.3 \pm 79,57 \text{ g.kg}^{-1}$; Tabela 5) uma vez que no rúmen ocorreria uma compensação entre degradação e síntese de proteína.

Taxa de passagem e de digestão da matéria seca e nutrientes

A inclusão de glicerina não alterou ($P>0.05$) a taxa de passagem da matéria seca das dietas ($3,52 \pm 1,00 \text{ \%}.h^{-1}$; Tabela 6). O mesmo não aconteceu com as taxas de digestão da MS, MO e FDNcp que aumentaram linearmente ($P<0,05$) com a inclusão da glicerina (Tabela 6). O aumento nas taxas de digestão ruminal dos constituintes (Tabela 6) resultou em aumento na digestibilidade ruminal dos mesmos (Tabela 5).

Tabela 6 – Taxa de passagem (kp) e taxa de digestão (kd) de acordo com os tratamentos

Ítems ¹	Inclusão de glicerina bruta na dieta (%MS)					EPM	P-Valor	
							Linear	Quadrático
	0	5	10	15	20			
Taxa de passagem, em %.h ⁻¹								
MS	3,42	3,72	3,77	3,42	3,24	0,5648	0,3955	0,1722
Taxa de digestão, em %.h ⁻¹								
MS	3,67	4,41	4,92	5,36	5,04	0,8781	0,0117	0,1652
MO	4,32	5,14	5,61	5,87	5,92	0,8204	0,0054	0,2261
PB	1,66	2,13	2,01	2,26	2,02	0,9823	0,5617	0,5349
FDNcp	1,90	2,39	2,64	2,60	2,63	0,3862	0,0100	0,0825

¹/MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; PB = proteína bruta; FDNcp = fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína;

O não houve efeito dos níveis de glicerina ($P>0,05$) sobre a taxa de digestão da proteína ($2,02 \pm 1,21\text{\%.h}^{-1}$, Tabela 6) sugere que a reposição da proteína removida com a substituição do milho pela glicerina bruta, através da inclusão do glúten de milho, preservou as características deste nutriente entre as dietas.

Parâmetros ruminais

Conforme já estabelecido, alguns parâmetros servem de indicativo qualitativo e quantitativo da fermentação ruminal (pH, N-NH₃ e AGV) podendo revelar alterações que ilustram as características da degradação ruminal. De acordo com os dados apresentados na Tabela 7, os níveis de inclusão de glicerina bruta não influenciaram ($P>0,05$) o valor médio do pH ruminal. Adicionalmente, o valor médio observado ($6,30 \pm 0,41$) mostrou-se adequado de acordo com o descrito por Rustomo et al. (2006), isto é, acima de 6,0, valor como referência para caracterizar o padrão de degradação ruminal do alimento como normal, ou seja, equilíbrio entre produção de ácidos e seu desaparecimento (neutralização e absorção).

Não obstante, o N-NH₃ foi linearmente influenciado ($P<0,05$) pela inclusão de glicerina na dieta. As concentrações ruminais reduziram à medida que a glicerina foi incorporada à dieta, sugerindo maior sincronismo entre a degradação protéica e assimilação do nitrogênio pelos microrganismos para síntese de proteína microbiana. Leng (1990) sugeriu que a máxima síntese de proteína microbiana ocorreu quando as concentrações de N-NH₃ no rúmen estavam entre 10 e 20 mg.dL⁻¹. Conforme exposto na Tabela 7, somente os tratamentos com inclusão de glicerina bruta se enquadraram dentro dessa faixa ótima.

As concentrações molares totais dos AGV, acetato, propionato e butirato e a relação acetato:propionato não foram afetadas ($P>0,05$) por nenhum dos tratamentos. As médias foram de 11,13; 5,48; 3,47; 2,19 mmol.dL⁻¹ e 1,58 , respectivamente (Tabela 7).

Similarmente, as proporções molares de acetato e butirato não foram afetadas ($P>0,05$) pela inclusão de glicerina, todavia a de propionato aumentou linearmente ($P<0,05$). Segundo Bergman et al. (1990), a relação molar acetato, propionato e butirato varia de 75:15:10 a 40:40:20. Neste estudo, a proporção média de acetato (46,17%) esteve de acordo com esses autores e a de butirato (21,39%), superior à faixa proposta.

Tabela 7 – Efeito da substituição do milho por glicerina bruta sobre pH ruminal, nitrogênio amoniacal no rúmen (N-NH₃) e ácidos graxos voláteis (AGV)

Ítems ¹	Inclusão de glicerina bruta na dieta (%MS)					EPM	P- Valor	
	0	5	10	15	20		Linear	Quadrático
pH	6,30	6,28	6,31	6,36	6,20	0,1761	0,3946	0,5526
N-NH ₃ (mg/dL)	24,62	19,43	19,57	20,30	17,65	4,0499	0,0415	0,4185
AGV (mmol/dL)	12,36	11,68	9,80	10,32	11,50	3,5958	0,5552	0,3287
Acetato (mmol/dL)	6,89	6,27	4,28	4,48	5,47	3,2896	0,3402	0,3452
Propionato (mmol/dL)	3,33	3,16	3,32	3,55	3,97	0,7194	0,1272	0,3143
Butirato (mmol/dL)	2,14	2,25	2,20	2,30	2,05	0,3411	0,7877	0,3558
A:P ²	1,93	1,95	1,32	1,36	1,34	0,7054	0,1019	0,6278
Acetato, %	50,98	50,13	42,72	42,68	44,34	10,7448	0,1974	0,5062
Propionato, %	28,62	28,54	34,06	34,85	36,10	6,5619	0,0408	0,8535
Butirato, %	20,40	21,33	23,18	22,48	19,56	5,1749	0,9432	0,2595

¹/ valores médios das coletas 0, 2, 4 e 6 horas após a alimentação.

²/ relação acetato:propionato.

Síntese de proteína microbiana e metabolismo de nitrogênio

Na Tabela 8 encontram-se as médias dos tratamentos para os derivados de purinas (ALA, AcU e DP), relação entre eles (ALA:DP), síntese de N microbiano e eficiência de síntese de proteína microbiana. Nenhum desses parâmetros foi afetado ($P>0,05$) pela inclusão de glicerina bruta na dieta.

Da mesma forma que para a concentração sérica de uréia, as excreções de uréia e nitrogênio total na urina não diferiram ($P>0,05$) em função dos níveis crescentes de glicerina na dieta (Tabela 9).

Tabela 8 – Excreção urinária de derivados de purina, síntese e eficiência de síntese microbiana em bovinos de corte alimentados com níveis de glicerina bruta na dieta

Ítems ¹	Inclusão de glicerina bruta na dieta (%MS)					EPM	P-Valor	
	0	5	10	15	20		Linear	Quadrático
ALA	191,62	202,09	210,63	245,93	225,10	47,4145	0,1533	0,6507
AcU	24,80	33,39	28,09	35,00	31,60	7,3896	0,1716	0,3597
DP	220,33	235,47	238,72	280,94	256,70	53,1888	0,1717	0,6620
ALA:DP	0,87	0,85	0,88	0,87	0,88	0,0139	0,0858	0,8586
Nmic	114,91	125,04	126,32	153,71	137,61	33,8782	0,1783	0,6513
EMic	116,28	112,68	128,42	122,44	123,43	40,0833	0,4489	0,5267

1/ALA = alantoina (mmol/dia); AcU = ácido úrico (mmol/dia); DP = derivados de purina excretados na urina (mmol/dia); ALA:DP = relação ALA:DP; Nmic = nitrogênio microbiano ruminal (g/dia); Efic = eficiência microbiana (g PB/kg NDT consumido).

Tabela 9 – Concentração sérica de nitrogênio uréico (SUN), excreção urinária de nitrogênio uréico (ENUE) e excreção de nitrogênio total na urina (NT) de bovinos de corte alimentados com níveis de glicerina na dieta

Ítems	Inclusão de glicerina bruta na dieta (%MS)					EPM	P-Valor	
	0	5	10	15	20		Linear	Quadrático
SUN (mg/dL)	8,55	8,77	9,84	9,60	9,50	1,3036	0,1640	0,3904
ENUE (mg/kgBW)	137,89	156,57	144,89	140,56	171,87	25,8534	0,1809	0,4657
ENUE (g/dia)	53,70	61,26	57,07	55,64	67,34	9,8531	0,1459	0,5160
NT (g/dia)	62,91	72,00	65,37	65,15	74,82	10,8075	0,0731	0,4725

DISCUSSÃO

Consumo de Matéria seca e nutrientes

Soares et al. (2011) avaliando o efeito da FDNcp de diferentes fontes volumosas sobre a ingestão de MS, verificaram que animais alimentados com silagem de milho não tem o consumo regulado por mecanismo físico, ou seja, enchimento. Estes autores citaram que consumos de até 21 g.kg^{-1} foram verificados em vacas leiteiras, valores de ingestão de FDNcp bem maior que os 12 g.kg^{-1} de peso corporal (PC), proposto por Mertens (1992). Desta maneira, consumos inferiores a esse limite, conforme observado nesse estudo ($5,93 \text{ g.kg}^{-1}$ PC), teriam como fator que determinante para a saciedade a densidade calórica da dieta.

O NDT expressa uma ideia do valor energético das dietas. Como nesse trabalho o consumo de NDT não diferiu entre os tratamentos, isto é, a limitação do consumo pelo atendimento dos requerimentos energético deveria se dar na mesma magnitude para os tratamentos. E como as dietas foram formuladas para apresentarem composição química o mais próximo possível uma das outras, o consumo dos constituintes dietéticos deveria seguir o mesmo comportamento, como de fato foi observado, à exceção do EE que conforme já mencionado, aumentou com a inclusão de glicerina devido ao aumento de seus teores nas dietas.

Diversos autores observaram redução no consumo de MS a medida que a glicerina foi incluída na dieta. Pyatt et al. (2007) reportaram que níveis maiores que 10% de inclusão de glicerina bruta na dieta afetou negativamente o consumo de MS. Similarmente, Parsons et al. (2009) também verificaram redução no consumo de matéria seca com a inclusão de glicerina na dieta, porém esse autores observaram que a depressão no consumo se deu a partir de 4% de inclusão. Segundo Trabue et al. (2007) essa depressão no consumo ocorreu porque associado ao aumento dos níveis de glicerina nas dietas, ocorreu concomitante acúmulo de lactato no rúmen que interferiu na fermentação do próprio glicerol, reduzindo o consumo. No entanto, não parece ter havido efeito da inclusão da glicerina bruta na fermentação ruminal (Tabela 7) neste estudo. Consequentemente, nenhuma interferência no consumo. Similarmente

aos resultados encontrados neste trabalho, DeFrain et al. (2004), Chung et al. (2007) e Mach et al. (2008) não verificaram redução do consumo com a inclusão de glicerina na dieta.

Digestibilidade aparente total e parcial da matéria seca e dos nutrientes

Considerando que a digestibilidade efetiva de um alimento ou dieta é determinado por características intrínseca do próprio alimento e da capacidade de ação do sistema enzimático microbiano e do próprio animal (Detmann et al., 2008), pode-se afirmar que a glicerina é mais digestível que o milho moído, uma vez que a digestibilidade aparente total de todos os nutrientes dietéticos, exceto a do EE (Tabela 4) e a DR e kd da MS e MO (Tabela 5 e 6) aumentaram com a inclusão de glicerina em dietas de bovinos de corte em confinamento. Adicionalmente, a inclusão deste ingrediente também estimulou a atividade microbiana no rúmen, já que a digestibilidade da FDNcp melhorou ($P < 0,05$) com a inclusão desse ingrediente na dieta, que não tem fibra em sua composição.

Alguns autores têm observado inibição da atividade de enzimas fibrolíticas na presença de amido no meio (Hiltner & Dehority, 1983, citados por Arroquy et al., 2005; Piwonka & Firkins, 1993), fato que parece estar associado a liberação de compostos inibidores pelos microrganismos amilolíticos (El-Shazly et al., 1961), os quais parecem ser de natureza protéica (bacteriocinas) (Piwonka & Firkins, 1993; Kalmokoff et al., 1996). Esse argumento implicaria redução na degradação da fibra, com consequente diminuição na digestibilidade da FDNcp na presença de amido. Conforme pode ser observado na Tabela 4, à medida que a participação do amido aumentava na dieta (menores níveis de glicerina), a digestibilidade da FDNcp foi prejudicada. Isso sugere então que a inclusão de glicerina na dieta em substituição ao milho pode contribuir para manter a saúde ruminal, já que tira amido do meio, ajudando também a obter melhor utilização da fração fibrosa em dietas de terminação com maior participação de concentrado.

A glicerina tem sido caracterizada como um alimento rapidamente fermentado no rúmen (Rémond et al., 1993). Estimativas do desaparecimento do glicerol no rúmen indicam que mais de 85% desse composto desaparece do rúmen em duas horas, em

animais adaptados a esse ingrediente na dieta (Kijora et al., 1998). Tal fato pode ser devido à degradação ruminal do glicerol pelos microrganismos ruminais, como também pela sua absorção direta pelo epitélio ruminal (Rémond et al., 1993). Deste modo, parece coerente que as digestibilidades aparente totais da MO e do CNF tenham aumentado ($P < 0,05$) a medida em que a glicerina foi tomando maior participação na composição dietética.

A união dos argumentos que justificariam o incremento na digestibilidade aparente total da FDNcp, MO e CNF culminaria no consequente aumento na digestibilidade da MS, o que de fato aconteceu (Tabela 4).

O rápido desaparecimento ruminal da glicerina, que caracteriza a digestibilidade efetiva à medida que ela toma espaço nas dietas, corrobora com os resultados apresentados na Tabela 5. A proporção da MS e MO que foram digeridas no rúmen aumentou linearmente, acompanhando os níveis de inclusão de glicerina, certamente decorrente dessa característica de rápido desaparecimento ruminal do glicerol.

Embora a proporção da MS e MO que foi digerida nos intestinos teve comportamento inverso (decreceu com a inclusão da glicerina) ao observado para a digestibilidade ruminal (Tabela 5), em bases absolutas, esse resultado parece não modificar o padrão de digestão total destes constituintes nas dietas. Isso porque a maior parte da digestão dos nutrientes ocorreu no rúmen (Tabela 5). Portanto, o comportamento geral da digestibilidade total dos nutrientes ao longo do trato digestório seguiu a mesma tendência da digestibilidade ruminal.

Taxa de passagem e de digestão da matéria seca e nutrientes

Carvalho et al. (1997), trabalhando com níveis crescentes de concentrado, encontraram médias similares (3,6 e 3,8 $\% \cdot h^{-1}$) as desse estudo para taxa de passagem em dietas com níveis de concentrado de 450 e 570 $g \cdot kg^{-1}$ MS, respectivamente.

O tempo de retenção do alimento é altamente correlacionado com o nível de alimentação, visto que maiores taxas de passagem (kp) resultam de maiores consumos (Van Soest, 1994). Além disso, Dalke et al. (1997) relataram que em dietas com maiores teores de fibra e mesmo nível de concentrado, a FDN incrementaria a kp

devido ao efeito favorável sobre a degradação microbiana e fluxo de saliva no ambiente ruminal. A junção desses pressupostos alicerça a ideia de que para dietas semelhantes (níveis de concentrado igual e teor de FDNcp bastante parecidos, Tabela 1) e consumos de MS iguais (Tabela 3) teriam que apresentar, necessariamente, taxas de passagem iguais, como de fato foi verificado (Tabela 5).

Segundo Ellis (1994), a taxa de passagem é uma variável crítica que afeta a utilização do nutriente, visto modular o tempo disponível para os processos digestivos e absorptivos. Sob essa óptica e considerando a mesma kp, encontrada para as diferentes dietas, sugere-se que as taxas de digestão encontradas para MS, MO e FDNcp (Tabela 6) resultam das diferenças intrínsecas características de cada alimento e das interações entre os componentes das rações, isto é, a glicerina teria um rápido desaparecimento ruminal e ainda estimularia a degradação da FDNcp.

Rémond et al. (1993) observaram que entre 4 e 6 horas após o início da fermentação ruminal, quase todo glicerol desapareceu do sistema, e que esse desaparecimento aumentava com a quantidade administrada desse composto. Por outro lado, o amido do milho moído apresenta digestão ruminal média de 64,2% (Goetsch et al., 1987). Essas afirmativas evidenciam as diferenças quanto a degradabilidade inerente a cada um dos ingredientes (glicerina bruta e milho) avaliados neste estudo, corroborando, assim, como os resultados em que maiores inclusões de glicerina na dieta resultaram em aumento na taxa de digestão (kd) de MS e MO

Geralmente, a taxa de digestão da FDN está relacionada ao tipo e nível de fibra usado na dieta (Uwituze et al., 2010). Porém os níveis de fibra entre as dietas testadas, bem como a fonte, pouco variaram. O aumento da kd da FDNcp com os níveis de glicerina dietética parecem advir das interações que ocorrem entre os ingredientes na dieta.

O efeito prejudicial sobre a digestão da FDNcd, verificado quando a participação do amido na dieta é maior, parece envolver a competição por nutrientes essenciais entre grupos de espécies microbianas, resultando em maior proliferação dos microrganismos que degradam amido (El-Shazly et al., 1961; Coelho da Silva & Leão, 1979; Mould et al., 1983). Essa competição conduziria à preferência inicial pela utilização do amido como substrato energético no ambiente ruminal como um todo (El-

Shazly et al., 1961). No entanto, a medida que a disponibilidade do amido vai sendo reduzida, os carboidratos passam, gradativamente, ser os substratos energéticos predominantes para os microrganismos ruminais (El-Shazly et al., 1961; Mertens & Lofton, 1980; Arroquy et al., 2005). Assim, a inclusão de glicerina na dieta não comprometeria a digestão ruminal da FDNcp (Tabela 5), mas interferiria na taxa de digestão da FDNcp (Tabela 6).

Parâmetros ruminais

A fermentação da MO no rúmen induz mudanças no pH ruminal, que afetam o ecossistema microbiano, determinando o crescimento seletivo de espécies, bem como os tipos e quantidades de produtos da fermentação (NH_3 e AGV – Russell & Diez-Gonzalez, 1998; Mouriño et al., 2001; Russell and Rychlik, 2001; Allen et al., 2006). A fermentação a ácidos orgânicos, que se dissociam, decresce os valores do pH ruminal (Russell & Rychlik, 2001).

Conforme discutido previamente, houve progressiva melhoria na degradação ruminal dos carboidratos fibrosos e não fibrosos à medida que a glicerina foi incluída nas dietas. Resultados estes, suportados pelo fato de que a glicerina apresenta maior desaparecimento ruminal, comparativamente ao milho. Deste modo, pareceria coerente que as concentrações dos AGV e a conseqüente queda no pH acompanhem os níveis de inclusão de glicerina, conforme verificado por DeFrain et al. (2004) e Trabue et al. (2007). No entanto, nenhuma destas variáveis foi afetada pelos tratamentos (Tabela 7).

Além disso, a suplementação com glicerina modificaria os padrões fermentativos no rúmen, alterando as proporções dos AGV. DeFrain et al. (2004), Trabue et al. (2007) e Ávila et al. (2011) também reportaram aumento na proporção molar de propionato e redução na relação acetato:propionato quando compararam animais suplementados com glicerol, com não suplementados. Similarmente ao descrito por estes autores, verificou-se linear aumento na proporção de propionato à medida que o glicerol foi incluído na dieta. Contudo, esse aumento proporcional nas concentrações de propionato no rumen deveria vir acompanhado pelo decréscimo de, pelo menos, um dos outros AGV (acetato ou butirato) o que não verificado. Wang et al. (2009)

observaram que além do propionato, o butirato também foi aumentado com a suplementação com glicerol.

Curiosamente, os resultados referentes à fermentação ruminal (Tabela 7) parecem não acompanharem essa lógica. Tal aparente incoerência pode ser justificada pela dinâmica fermentativa do glicerol no rúmen e pelos diferentes mecanismos e taxas de absorção dos AGV no epitélio ruminal entre os tratamentos.

O trabalho de Rémond et al. (1993) mostrou que cerca de 50% do glicerol que desapareceu no rúmen é fermentado, mas que a outra metade foi diretamente absorvido pela parede do rúmen. Esses mesmos autores também mostraram que a taxa de fermentação do glicerol no rúmen é dependente da dose, ou seja, a proporção do glicerol fermentado no rúmen aumentou à medida que a quantidade fornecida foi maior. Assim, embora parte do desaparecimento do glicerol ruminal seja explicada pela absorção direta (sem formação de AGV no rúmen), a porção fermentável aumentaria com os maiores níveis, levando ao aumento da produção dos AGV.

Por isso, há de se considerar possíveis interferências das dietas na absorvidade dos AGV no epitélio ruminal. Algumas características que influenciam a absorção dos AGV são importantes para o entendimento do processo. O comprimento da cadeia (Danielli et al, 1945; Gray, 1947), o pH ruminal (Gray, 1948), o metabolismo parcial de AGV durante a absorção (butirato > acetato > propionato; Masson e Phillipson, 1951), a contribuição da absorção de AGV para a estabilização do pH ruminal (Masson e Phillipson, 1951; Ash e Dobson, 1963) e o aparecimento de bicarbonato no rúmen, quando ácidos graxos de cadeia curta são absorvidos (Ash and Dobson, 1963) compreendem fatores envolvidos com metabolismos dos AGVs no rúmen. Deste modo, o epitélio ruminal, por si só, tem grande contribuição para diminuir a quantidade de ácidos e a carga de H^+ no rúmen (Aschenbach et al., 2010).

O modelo atual de absorção de AGV baseado na difusão lipofílica tem sido postulado como sendo a única via relevante de absorção de AGV (Bugaut, 1987; López et al, 2003, Graham et al, 2007). No entanto, em ambientes ruminiais com pH mais próximo da neutralidade, a maior parte dos AGV ($pka \sim 4,8$) estariam da forma dissociada o que dificultaria ainda mais a sua absorção. Dados experimentais mostram que todos os três AGV são absorvidos a taxas fracionais bastante comparáveis no

rúmen de bovinos em pH fisiológico ruminal (Dijkstra et al., 1993; Kristensen e Harmon, 2004, 2005). Portanto, é essencial considerar a existência de vias adicionais de absorção, pelo menos, para os ácidos acético e propiônico, isto é, ácidos com diminuição das taxas de absorção e metabolismo intraepitelial lipofílico comparado com o ácido butírico.

A principal via não difusional de absorção de AGV requer proteínas de transporte e se aplica aos anions dissociados, através do co-transporte com o HCO_3^- (Gabel et al, 1991; Kramer et al, 1996; Aschenbach et al, 2009). A entrada de HCO_3^- nas células do epitélio ruminal é Na^+ dependente. Sehested et al. (1996) descreveram o Na^+ , normalmente proveniente da saliva, como agente que aumenta a força motriz que cria um gradiente químico para propicia esse co-transporte. Estimativas quantitativas indicam que até 50% do AGV pode ser absorvido através desse co-transporte (Ash and Dobson, 1963; Gabel et al, 1991; Penner et al, 2009).

A partir desse conceito, pode-se propor que a suplementação com glicerina poderia ter potencializado este mecanismo de co-transporte, uma vez que esta continha em sua composição uma considerável concentração de sódio (8,82% da MS – dado não publicado). Sendo assim, o estudo quantitativo das concentrações dos AGV no rúmen torna-se mais difícil, uma vez que a taxa de absorção de determinado metabólito, principalmente propionato e acetado, pode ter mascarado uma mensuração mais acertada de cada AGV.

As concentrações de N-NH_3 no rúmen, quando se elevam, estão associadas com concomitante aumento nos valores de pH devido a remoção de prótons H^+ do meio pelas moléculas de amônia (Wang and Fung, 1996). Porém esse efeito parece não ter ocorrido no presente estudo, o pH ficou inalterado enquanto as concentrações de N-NH_3 decresceram com a inclusão de glicerina bruta na dieta (Tabela 7).

A redução linear da concentração de N-NH_3 ruminal poderia ser devido à atividade proteolítica reduzida. Paggi et al. (1999) relataram que o aumento de glicerol no meio ruminal reduziu a atividade proteolítica do fluido do rúmen em cerca de 20%. Abo El-Nor et al. (2010) descreveram que houve redução das bactérias *Clostridium proteoclasticum*, uma espécie com atividade proteolítica, com a inclusão de glicerol nas dietas de bovinos. Mas a menor atividade proteolítica no rúmen não parece ser a

principal causa da redução nas concentrações ruminais de N-NH_3 , principalmente porque a kd PB e a digestibilidade ruminal da PB não sofreram influência dos tratamentos.

A queda linear nas concentrações de N-NH_3 com a inclusão da glicerina foi inversamente relacionada com a taxa de digestão da FDNcp (Tabela 6), que aumentou a medida que os níveis de glicerina aumentaram na dieta. A este fato pode ser atribuído o entendimento dos resultados das concentrações de amônia no rúmen, pois o nitrogênio amoniacal é utilizado preferencialmente como precursor para síntese de proteína pelos microrganismos fibrolíticos (Russell et al., 1992).

Síntese de proteína microbiana e metabolismo de nitrogênio

É possível que devido a ausência de efeito da inclusão de glicerina sobre o consumo de MS e alguns parâmetros da fermentação ruminal, como pH e AGV, podem ter corroborado para que a excreção dos derivados de purina na urina e síntese de N microbiano (NMic) permanecessem inalterados (Tabela 8).

Conforme já mencionado anteriormente, as concentrações totais e individuais de AGV não diferiram entre os tratamentos. Contudo, quando se toma por base as concentrações molares no fluido ruminal e tenta-se extrapolar para a produção total desses ácidos, tal correlação não parece ser tão verdadeira. Isso por que, as taxas de degradação da MS, MO e FDNcp (Tabela 5) e digestibilidade ruminal da MS e MO (Tabela 4) aumentaram com inclusão de glicerina.

Este fato sugere a necessidade de uma investigação mais minuciosa a respeito desta etapa no entendimento do metabolismo do glicerol do rúmen. Atribuindo assim, o aumento do desaparecimento ruminal de MS e MO a maior atividade fermentativa microbiana ou a absorção direta pelo epitélio do rúmen.

Wang et al. (2009) verificaram aumento na excreção de DP em bovinos alimentados com níveis crescentes de glicerina em suas dietas. A este fato sugere-se, conseqüentemente, aumento da síntese de NMic no rúmen que foi acompanhada de maior degradação ruminal e redução das concentrações ruminais de N-NH_3 .

No entanto, a excreção de DP, síntese de NMic e a eficiência de síntese microbiana não foram afetados pela inclusão da glicerina bruta na dieta (Tabela 8).

Reforçando que o maior desaparecimento ruminal da MS e MO se deu pelo transporte direto do glicerol pelo epitélio ruminal ao invés do significativo aumento da atividade fermentativa ruminal.

De acordo com Santos et al. (2001), quanto maior a degradação da proteína dietética, maior a produção de amônia ruminal e, conseqüentemente, maiores as concentrações de uréia no soro e as perdas nitrogenadas na urina. Isto ocorre porque a maior parte da amônia não utilizada pelos microrganismos é absorvida pela parede ruminal por difusão e transportada para o fígado onde é convertida a uréia. Parte dessa uréia é excretada, via urina, e parte pode retornar ao rúmen via saliva ou por difusão através da parede celular.

Neste estudo, apesar da redução nas concentrações de N-NH_3 no rúmen (Tabela 7) com a inclusão de glicerina na dieta, não se observou aumento nas perdas de N na urina e concentrações séricas de N uréico (NUS) para os tratamentos com menor inclusão de glicerina (Tabela 9). Este fato, segundo De Paula et al. (2010), pode acontecer devido à enorme capacidade que o animal tem de reciclar ureia. Porém, deve-se considerar que este processo tem um custo energético muito elevado, uma vez que para cada mol de ureia produzido é gasto um mol de ATP.

Segundo Butler et al. (1998), a variação de NUS é um parâmetro útil para avaliar a utilização da proteína em relação à sua ingestão. Broderick (1995) sugeriu que valores de NUS de 10,7 a 15,2 mg/dL indicariam adequado balanceamento de PDR e de energia fermentada no rúmen. Os valores obtidos neste experimento encontram-se abaixo do preconizado (9,25 mg/dL), mostrando que as dietas proporcionaram uso eficiente da proteína, minimizando as perdas de nitrogênio, ou as dietas eram deficientes em proteína degradável no rúmen (PDR).

A deficiência de PDR não parece ser a principal causa pelos baixos valores de NUS, uma vez que as concentrações ruminiais de N-NH_3 foram elevadas (Tabela 7). Já a eficiência da utilização da amônia ruminal pelos microrganismos para a síntese microbiana depende, dentre outros fatores, principalmente da disponibilidade de energia no rúmen, parece ser a explicação mais coerente para o evento observado. Os resultados mostraram que, apesar das concentrações de N-NH_3 terem estado um pouco superior aos valores sugeridos pela literatura (Tabela 7), a glicerina, bem como o

milho, forneceu esqueleto carbônico para o adequado e eficiente crescimento microbiano (Tabela 9). A prova disso foi a já mencionada baixa passagem dessa amônia para o sangue (Tabela 9) e ao não efeito sobre a eficiência de síntese microbiana (Tabela 8).

CONCLUSÃO

A inclusão de glicerina bruta não altera o padrão de consumo dos animais, provocando mínimas alterações do padrão fermentativo do rúmen, mas aumenta a digestibilidade ruminal e total dos constituintes das dietas. Como consequência, têm-se dietas com maiores teores energéticas.

A glicerina como uma alternativa ao milho mostra-se bastante promissora. O fornecimento de até 1,50 kg.d⁻¹ para bovinos de corte oriundos de cruzamento industrial contribui para melhorar a concentração de energia das dietas.

LITERATURA CITADA

- Abo El-Norb, S., A.A. AbuGhazaleha, R.B. Potua, D. Hastingsa, M.S.A. Khattabb, 2010. Effects of differing levels of glycerol on rumen fermentation and Bacteria. Anim. Feed Sci. Technol. 162, 99-105.
- Allen, M. S. & J. A. V. Linton., 2007. In vitro methods to measure digestibility and digestin kinetics of feed frations in the rumen, in.: Rennó, F.P. and Silva, L.F.P. (Eds.), Simpósio Internacional Avanços em técnicas de pesquisa em nutrição de ruminantes, 1. São Paulo/USP, pp.72-89.
- Allen, M. S., Voelker, J. A., Oba, M. 2006. Physically effective fiber and regulation of ruminal pH: More than just chewing, in: Joshi, N. P., Herdt, T. H (Eds.), Production Diseases in Farm Animals. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Netherlands, pp. 270-278.
- Arroquy, J.I., Cochran, R.C., Nagaraja, T.G. et al. 2005. Effect of types of non-fiber carbohydrate on in vitro forage fiber digestion of low-quality grass hay. Anim. Feed Sci. Technol. 120, 93-106.
- Aschenbach, J. R., Bilk, S., Tadesse, G., Tadesse, F., Gabel, G., 2009. Bicarbonate-dependent and bicarbonate-independent mechanisms contribute to nondiffusive

- apical uptake of acetate in the ruminal epithelium of sheep. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 296, 1098–1107.
- Aschenbach, J. R., Penner, G. B., Stumpff, F., Gäbel, G., 2010. Ruminant Nutrition Symposium: Role of fermentation acid absorption in the regulation of ruminal pH. *J. Anim. Sci.* 89, 1092-1107.
- Ash, R. W., Dobson, A., 1963. The effect of absorption on the acidity of rumen contents. *J. Physiol.* 169, 39–61.
- Association of Official Analytical Chemistry (AOAC). 1990. *Official Methods of Analysis*, 15th ed. AOAC International, Arlington, VA.
- Ávila, J. S., Chaves, A.V., Hernandez-Calva, M., Beauchemin, K.A., McGinn, S.M., Wang, Y., Harstadd, O.M., McAllister, T.A., 2011. Effects of replacing barley grain in feedlot diets with increasing levels of glycerol on in vitro fermentation and methane production. *Anim. Feed Sci. Technol.* 167-168, 265-268.
- Barbosa, A. M., Valadares, R. F. D., Valadares Filho, S. C., Pina, D. S., Detmann, E., Leão, M. I., 2011. Endogenous fraction and urinary recovery of purine derivatives obtained by different methods in Nellore cattle. *J. Anim. Sci.* 89:510-519.
- Bergman, E.N., 1990. Energy contributions of volatile fatty acid from the gastrointestinal tract in various species. *Physiol. Rev.* 10, 567-589.
- Broderick, G.A. 1995. Use of milk urea as an indicator of nitrogen utilization in lactating dairy cow. Washington: USDA Agricultural Research Service; US Dairy Forage Research Center. 122p. (Research Summaries).
- Bugaut, M. 1987. Occurrence, absorption and metabolism of short chain fatty acids in the digestive tract of mammals. *Comp. Biochem. Physiol.* 86, 439–472.
- Butler, W.R. 1998. Review: Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 81, 2533-2539.
- Carvalho, A. U., Valadares Filho, S. C., Coelho da Silva, J. F., Cecon, P. R., Valadares, R. F. D., Gouveia, R. C. C. O. 1997. Níveis de Concentrado em dietas de Zebuínos. 4. Concentrações ruminiais de amônia e pH, taxa de passagem da digesta ruminal e degradação in situ dos alimentos. *R. Bras. Zootec.* 26, 1016-1024.
- Cecava, M.J., Merchen, N.R., Gay, L.C. 1990. Composition of ruminal bacteria harvested from steers as influenced by dietary energy level, feeding frequency and isolation techniques. *J. Dairy Sci.* 73, 2480-2488.

- Chaney, A.L.; Marbach, E.P. 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clinical Chem.* 8, 130-132.
- Chen, X.B., Gomes, M.J. 1992. 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).
- Chung, Y. H., Rico, D. E., Martinez, C. M., Cassidy, T. W., Noiro, V., Ames, A., Varga, G. A., 2007. Effects of feeding dry glycerin to early postpartum Holstein dairy cows on lactational performance and metabolic profiles. *J. Dairy Sci.* 90, 5682-5691.
- Coelho Da Silva, J.F.; Leão, M.I. 1979. Fundamentos de nutrição dos ruminantes. Piracicaba.
- Dalke, B.S., Sonon, R. N., Young, M. A., 2007. Wheat middlings in high-concentrate diets: feedlot performance, carcass characteristics, nutrient digestibilities, passage rates, and ruminal metabolism in finishing steers. *J. Anim Sci.* 75, 2561-2566.
- Danielli, J. F., Hitchcock, M. W. S., Marshall, R. A., Phillipson, A. T., 1945. The mechanism of absorption from the rumen as exemplified by the behavior of acetic, propionic, and butyric acids. *J. Exp. Biol.* 22, 75-84.
- De Paula, N. F., Zervoudakis, J. T., Cabral, L. S., Carvalho, D. M. G., Hatamoto-Zervoudakis, L. K., Moraes, E. H. B. K., Oliveira, A. A., 2010. Frequência de suplementação e fontes de proteína para recria de bovinos em pastejo no período seco: desempenho produtivo e econômico. *R. Bras. Zootec.* 39, 873-882.
- DeFrain, J.M., Hippen, A.R., Kalscheur, K.F., Jardon, P.W., 2004. Feeding glycerol to transition dairy cows: effects on blood metabolites and lactation performance. *J. Dairy Sci.* 87, 4195-4206.
- Detmann, E.; Paulino, M.F.; Valadares Filho, S.C. 2008. Avaliação nutricional de alimentos ou de dietas? Uma abordagem conceitual. In: VI Simpósio Internacional de Gado de Corte, in: Valadares Filho, S.C.; Paulino, M.F.; Paulino, P.V.R. et al. (Eds.) Simposio Internacional de Gado de Corte. Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Zootecnia, Viçosa, pp. 21-52.
- Dijkstra, J., Boer, Van Bruchem, H., Bruining, J., M., Tamminga, S., 1993. Absorption of volatile fatty acids from the rumen of lactating dairy cows as influenced by volatile fatty acid concentration, pH, and rumen liquid volume. *Br. J. Nutr.* 69, 385-396.
- Donkin, S.S. 2008. Glycerol form biodiesel production: the new corn for dairy cattle. *R. Bras. Zootec.* 37, suplemento especial, p.280-286.

- Duffield, T., Plaizier, J.C., Fairfield, A., Bagg, R., Vessie, G. et al., 2004. Comparison of techniques for measurement of rumen pH in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 87, 59-66.
- Ellis, W.C. et al. 1994. Methodology for estimating digestion and passage Kinetics of forage, in: Fahey Jr., G.C. Moser, L.E., Mertens, D.R. et al. (Eds), *National Conference On Forage Quality, Evaluation, And Utilization*. Madison: American Society of Agronomy/Crop Science Society of America, pp. 682-756.
- El-Shazly, K, Dehority, B.A., Johson, R.R., 1961. Effect of starch on the digestion of cellulose in vitro and in vivo by rumen microorganisms. *J. Anim. Sci.* .20, 268-273.
- Fisher, L.J; Erfle. J.D.; Sauer, F.D., 1971. Preliminary evaluation of the addition of glucogenic materials to the rations of lactating cows. *Can. J. Anim. Sci.* 51, 721-727.
- France, J., Siddons, R. C., 1986. Determination of digesta flow by continuous marker infusion. *J. Theor. Biol.* 121, 105–119.
- Gabel, G., Bestmann, M., Martens, H., 1991. Influences of diet, short-chain fatty acids, lactate and chloride on bicarbonate movement across the reticulorumen wall of sheep. *Zentralbl.Veterinarmed.* 38, 523–529.
- Goetsch, A. L., Owens, F., Funk, N. M. A., Doran, B. E., 1987. Effects of whole or ground corn with different forms of hay in 85% concentrate diets on digestion and passage rate in beef heifers. *Anim. Feed Sci. Technol.* 18, 151-164.
- Graham, C., Gatherar, I., Haslam, I., Glanville, M., Simmons, N.L., 2007. Expression and localization of monocarboxylate transporters and sodium/proton exchangers in bovine rumen epithelium. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 292, 997–1007.
- Gray, F. V. 1947. The absorption of volatile fatty acids from the rumen. *J. Exp. Biol.* 24, 1–14.
- Gray, F. V. 1948. The absorption of volatile fatty acids from the rumen: II. The influence of pH on absorption. *J. Exp. Biol.* 25, 135–144.
- Hall, M.B., 2000. Calculation of non-structural carbohydrate content of feeds that contain non-protein nitrogen. *Tech. Bull. N^o. 339*. University of Florida.
- Johnson, R.B. 1955. The treatment of ketosis with glycerol and propylene glycol. *Cornell Veterinarian*, 44, 6-21.
- Kalmokoff, M.L., Bartlett, F., Teather, R.M. 1996. Are ruminal bacteria armed with bacteriocins? *J. Anim. Sci.* 79, 2297-2306.

- Kerr, B.J., Weber, T.E., Dozier, W.A., Kidd, M.T., 2009. Digestible and metabolizable energy content of crude glycerin originating from different sources in nursery pigs. *J. Anim. Sci.* 87, 4042–4049.
- Kijora C, H. Bergner, K.P. Gotz, J. Bartelt, J. Szakacs, and A. Sommer. 1998. Research note: investigation on the metabolism of glycerol in the rumen of bulls. *Arch. Tierernahr.* 51, 341-348.
- Kramer, T., T. Michelberger, H. Gurtler, and G. Gabel. 1996. Absorption of short chain fatty acids across ruminal epithelium of sheep. *J. Comp. Physiol.* 166, 262–269.
- Kristensen, N. B., Harmon, D. L., 2004. Splanchnic metabolism of volatile fatty acids absorbed from the washed reticulorumen of steers. *J. Anim. Sci.* 82, 2033–2042.
- Kristensen, N. B., Harmon, D. L., 2005. Effects of adding valerate, caproate, and heptanoate to ruminal buffers on splanchnic metabolism in steers under washed-rumen conditions. *J. Anim. Sci.* 83, 1899–1907.
- Leão, M.I.; Coelho da Silva, J.F. 1980. Técnicas de fistulação de abomaso em bezerros: In: Congresso Brasileiro de Zootecnia, 1. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Fortaleza: Sociedade Brasileira de Zootecnia, pp. 37
- Leng, R.A. 1990. Factors affecting the utilization of “poor-quality” forages by ruminants particularly under tropical conditions. *Nutr. Res. Rev.* 3, 277.
- Licitra, G., Hernandez, T.M., Van Soest, P.J. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 57, 347-358.
- Lopez, S., Hovell, F. D., Dijkstra, J., France, J., 2003. Effects of volatile fatty acid supply on their absorption and on water kinetics in the rumen of sheep sustained by intragastric infusions. *J. Anim. Sci.* 81, 2609–2616.
- Mach, N., Bach, A., Devant, M., 2008. Effects of crude glycerin supplementation on performance and meat quality of Holstein bulls fed high-concentrate diets. *J. Anim. Sci.* 87, 632-638.
- Masson, M. J., Phillipson, A.T., 1951. The absorption of acetate, propionate and butyrate from the rumen of sheep. *J. Physiol.* 113, 189–206.
- Mertens ,D.R., Lofton, J.R. 1980. The effect of starch on forage fiber digestion kinetics in vitro. *J. Dairy Sci.* 63, 1437-1446.
- Mertens, D.R. 1992. Análise da fibra e sua utilização na avaliação e formulação de rações, in: Simpósio Internacional de Ruminantes, Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 29, Lavras,. Anais... Lavras: SBZ.

- Mertens, D.R. 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beaker or crucibles: collaborative study. *J. AOAC Internat.* 85, 1217-1240.
- Mould, F.L.; Ørskov, E.R.; Manns, O. 1983. Associative effects of mixed feeds. I. Effects of type and level of supplementation and the influence of the rumen pH on cellulolysis in vivo and dry matter digestion of various roughages. *Anim. Feed Sci. Technol.* 10, 15-30.
- Mouriño F., Akkarawongsa R., Weimer P. J. 2001. Initial pH as a determinant of cellulose digestion rate by mixed ruminal microorganisms in vitro. *J. Dairy Sci.* 84, 848–859.
- Myers, W.D.; Ludden, P.A.; Naygihugu, V. 2004. Technical Note: a procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. *J. Anim. Sci.* v. 82, 179-183.
- National Research Council - NRC. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7. ed. Washington, DC: National Academy Press.
- Oliveira. M.V.M. 2003. Utilização do ionóforo monensina sódica na alimentação de ruminantes. Viçosa – MG: Universidade Federal de Viçosa.
- Paggi, R.A., Fay, J.P., Fernandez, H.M., 1999. Effect of short-chain acids and glycerol on the proteolytic activity of rumen fluid. *Anim. Feed Sci. Technol.* 78, 341–347.
- Parsons, G. L., Shelor, M. K., Drouillard, J.S., 2009. Performance and carcass traits of finishing heifers fed crude glycerin. *J. Anim. Sci.* 87, 653-657.
- Penner, G. B., Taniguchi, M., Guan, L.L., Beauchemin, K.A., Oba, M., 2009. The dietary forage to concentrate ratio does not affect the rate of volatile fatty acid absorption but alters the expression of genes regulating energy metabolism in rumen tissue. *J. Dairy Sci.* 92, 2767–2781.
- Piwonka, E.J., Firkins, J.L., 1993 Effect of glucose fermentation on fiber digestion by ruminal microorganisms in vitro. *J. Dairy Sci.* 79, 2196-2206.
- Pyatt, N. A., Doane, P. H., Cecava, M.J., 2007. Effect of crude glycerin in finishing cattle diets. *J. Anim. Sci.* 85(Suppl.1), 530.
- Rémond, B., Souday, E., Jouany, J.P., 1993. In vitro and in vivo fermentation of glycerol by rumen microbes. *Anim. Feed Sci. Technol.* 41, 121–132.

- Russell J. B., Diez-Gonzalez F., 1998. The effects of fermentation acids on bacterial growth. *Adv. Microb. Physiol.* 39, 205–234.
- Russell J. B., Rychlik J. L. 2001. Factors that alter rumen microbial ecology. *Science* 292, 1119–1122.
- Russell, J.B.; O'connor, J.D.; Fox D.G. et al., 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminant fermentation. *J. Anim. Sci.* 70, 3551-3561.
- Rustomo, B., AlZahal, O., Cant, J.P., Fan, M.Z., Duffield, T.F., Odongo, N.E., McBride, B.W., 2006. Acidogenic value of feeds. II. Effects of rumen acid load from feeds on dry matter intake, ruminal pH, fiber degradability and milk production in the lactating dairy cow. *Can. J. Anim. Sci.* 86, 119–126.
- Santos, F.A.P. Metabolismo de proteínas. 2006, in: Berchielli, T.T.; Pires, A.V.; Oliveira, S.G. (Eds), *Nutrição de Ruminantes*. 1th ed. Jaboticabal: Funep. pp. 255-286.
- Santos, G.T., Cavalieri, F.L.B., Modesto, E.C., 2001. Recentes avanços em nitrogênio não protéico na nutrição vacas leiteiras, in: *Sinleite - Novos Conceitos Em Nutrição*, 2.; 2001, Lavras. Anais... Lavras: Universidade Federal de Lavras. pp.225-248.
- SAS Institute. 2005. SAS system for windows: versão 9.0. Cary: SAS Institute.
- Sauer, F.D., Erfle, J.D., Fisher, L.J., 1973. Propylene glycol and glycerol as a feed additive for lactating dairy cows: an evaluation of blood metabolite parameters. *Can. J. Anim. Sci.*, 53, 265-271.
- Savastano, S. 1993. Efeito do nível do concentrado sobre parâmetros digestivos do feno de capim-gordura (*Melinis minutiflora* Pal de Blauv), em bovinos. Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- Sehested, J., Diernaes, L., Moller, P.D., Skadhauge, E., 1996. Transport of sodium across the isolated bovine rumen epithelium: Interaction with short-chain fatty acids, chloride and bicarbonate. *Exp. Physiol.* 81, 79–94.
- Silva, D.J.; Queiroz, A.C. 2002. *Análise de Alimentos: Métodos Químicos e Biológicos*. 3.ed. Editora UFV, Viçosa.
- Soares, A.O., Detmann, E., Campos, J.M.S., Pina, D.S., Souza, S.M., Costa, M.G. 2011. Meta-análise do impacto da fibra em detergente neutro sobre o consumo, a digestibilidade e o desempenho de vacas leiteiras em lactação. *Rev. Bras. Zootec.* 40, 1587-1595.

- Trabue, S., Kenwood, S., Tjandrakusuma, S., Rasmussen, M.A., Reilly, P.J., 2007. Ruminant fermentation of propylene glycol and glycerol. *J. Agric. Food Chem.* 55, 7043–7051.
- Uwituze, S., Parsons, G.L., Shelor, M.K. et al., 2010. Evaluation of dried distillers grains and roughage source in steam-flaked corn finishing diets. *J. Anim. Sci.* 88, 258-274.
- Valadares Filho, S.C., Marcondes, M. I., Chizzotti, M.L., Paulino, P.V.R., 2010. Exigências nutricionais de puros e cruzados. BR-CORTE. 2.ed. – UFV, Viçosa.
- Van Soest, P.J. 1994. Nutritional ecology of the ruminants. 2.ed. Ithaca: Cornell University.
- Wang, C., Lui, Q., Huo, W.J., Yang, W.Z., Dong, K.H., Huang, X.Y., Guo, G., 2009. Effects of feeding glycerol on rumen fermentation, urinary excretion of purine derivatives and feed digestibility in steers. *Livestock Sci.* 121, 15–20.
- Wang, J., Fung, D.Y., 1996. Alkaline-fermented foods: A review with emphasis on pidan fermentation. *Crit. Rev. Microbiol.* 22, 101–138.

Capítulo III

Performance and carcass traits of finishing bulls fed crude glycerin

ABSTRACT: This work was developed with the objective of evaluating the effect of replacing corn with crude glycerin on the intake and total apparent digestibility of diet components, performance, carcass traits, yields of commercial cuts, and carcass composition of beef cattle under feedlot conditions. Thirty-four crossbreed Red Angus x Nellore bulls with an average initial weight of 343.9 ± 16.56 kg were used. Four animals that served as the control group were slaughtered at the beginning of the experiment, and the remaining animals ($n = 30$) were assigned to a complete randomized design with five treatments and six replications per treatments (0, 5, 10, 15 or 20% glycerin inclusion on DM basis). At the end of the experiment all the animals were slaughtered. The insulin was linearly increased ($P > 0.05$) by the treatments, but the glucose was unaffected. The dry matter feed intake (DMI), nutrients digestibility were unaffected ($P > 0.05$) by treatment. Similarly, glycerin level did not affect ($P > 0.05$) the empty body average daily body weight gain, carcass daily weight gain, carcass deposition efficiency, carcass composition and physical and chemical composition of carcass gain. Dietary treatments also unaffected ($P > 0.05$) dressing percentage (59.72 ± 1.2950 %), *Longissimus* muscle area (78.09 ± 7.3424 cm²) a carcass backfat (5.28 ± 2.13 mm). Crude glycerin substitution of corn ground could be included in finishing cattle diet up to 20% of the DM without lead to detrimental effects on intake, growth performance, carcass performance or basic cut yields.

key words: average daily body weight, feedlot, finishing diet, glycerol

INTRODUCTION

Currently, the demand for renewable fuel has increased the interest on oilseeds for production of lubricants and biofuels such as biodiesel. As a consequence, large amounts of byproducts that can be used in animal diets has become available adding value to the agro-energetic productive chain.

Glycerin is a by-product from the biodiesel industry that results from transesterification of vegetable oils (Crandall, 2004) and presents high concentrations of glycerol (Dasari et al., 2005). Thus, glycerin is a potential ingredient that would be included in ruminant diets as an energy source to replace energetic feedstuffs such as cereals in order to reduce the feed costs. Additionally, glycerin has the potential to partially replace starch-based ingredients in the diet, such as corn, since glycerol can be absorbed or converted to propionate in the rumen and acts as a precursor for hepatic glucose synthesis (Johns, 1953). However, studies with regard to inclusion of crude glycerin in diets of beef cattle (Pyatt et al., 2007; Versemann et al., 2008; Mach et al., 2008; Parsons et al., 2009; Moriel et al., 2011) have not clearly defined an adequate level of inclusion that would improve animal performance and carcass quality traits.

Therefore, this work was developed with the objective of evaluating the effect of replacing corn with crude glycerin on the intake and total apparent digestibility of diet components, performance, carcass traits, yields of commercial cuts, and carcass composition of beef cattle under feedlot conditions.

METHODS

All animal care and handling procedures were approved by the Animal Care and Use Committee of the Department of Animal Science of the Universidade Federal de Viçosa, Brazil.

Animals, diets and experimental design

Thirty-four crossbreed Red Angus x Nellore bulls with an average initial weight of 343.9 ± 16.56 kg were used. Four animals that served as the control group were

slaughtered at the beginning of the experiment, and the remaining animals (n = 30) were assigned to a complete randomized design with five treatments and six replications per treatment. Animals were weighed and allotted in 30 individual pens (total area of 30 m²).

Cattle were initially submitted to a period of 30 days of adaptation and fed corn silage *ad libitum*, 2.0 kg of corn ground and 50.0 g urea per animal per day. After the adaptation a 84 d experimental period (three periods of 28 d each) was performed for evaluation of body weight gain, carcass weight and yield, commercial cut yields and body composition.

Bulls were randomly assigned to 1 of 5 concentrates that provide: 0, 5, 10, 15 or 20% crude glycerin inclusion on DM basis. Animals were fed diets containing 50.0% corn silage and 50.0% concentrate on DM basis and different levels of crude glycerin and corn gluten as a replacement of grounded corn (Table 1). Corn gluten was used to adjust the crude protein (CP) content of the diets due to differences in CP levels of the protein foods (corn and glycerin).

The diets were formulated to be isonitrogenous with 14.66% CP (DM basis) to meet crossbreed bovine nutritional demands of 413 kg of average body weight and a weight gain of 1.500 g/d, according to Valadares Filho et al. (2010) using equations developed for *Bos indicus* and crossbreed *Bos indicus* x *Bos Taurus* cattle. The ingredients proportion and the chemical composition of the experimental diets are presented in Table 1.

Table 1 - Diet formulation and analyzed nutrient content of experimental diets containing 0, 5, 10, 15, and 20% crude glycerin fed to finishing beef cattle

Item	Crude glycerin, % of DM				
	0	5	10	15	20
Ingredients, % of dietary DM					
Corn silage	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00
Ground corn	40.70	34.80	29.00	23.10	17.20
Soybean meal	7.15	7.15	7.15	7.15	7.15
Crude Glycerin	0.00	5.00	10.00	15.00	20.00
Urea/ammonium sulfate	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Mineral salt ¹	0.50	0.50	0.50	0.60	0.70
Corn gluten meal	0.00	0.90	1.70	2.55	3.40
Limestone	0.65	0.65	0.65	0.60	0.55
Analyzed nutrient composition, % of DM					
OM	96.12	95.68	95.24	94.81	94.37
CP	13.10	13.17	13.19	13.24	13.28
Ether extract	3.16	3.30	3.43	3.57	3.70
NDFap ²	32.07	31.37	30.69	29.99	29.29
NFC	51.31	51.35	51.45	51.53	51.61
Glycerol	0.00	4.03	8.05	12.08	16.11

¹/Composition: 41.66 % dicalcium phosphate; 56.79% salt; 0.20% copper sulfate; 1.19% zinc sulfate; 0.03% potassium iodate; 0.05% cobalt sulfate; 0.08% sodium selenite. Mineral composition (per kg): 31.5g P; 31g S; 95g Na; 50g Mg; 1200 mg Mn; 3000 mg Zn; 600mg Fe; 600 mg Copper; 36mg I; and 10mg Se.

²/ NDFap = neutral detergent fiber corrected for ash and protein.

Experimental procedures, sampling and chemical analysis

After 30-d of adaptation cattle were initially weighed after a solid fast of 16h, dewormed and fed the experimental diets. After this period, four bulls were randomly slaughtered to determine their empty body weight, body composition, and initial carcass

yields. The remaining 30 animals were assigned into experimental treatments previously described.

The animals were fed twice a day at 7 a.m. and 4 p.m. Diets were fed as a total mixed ration, when all ingredients were weighed daily before feeding. Crude Glycerin was weighed daily and mixed to the others constituents of the concentrate, which were then mixed to the corn silage in the bunk.

Daily weights and samplings were performed for the diet quantities provided and the leftovers from each animal. In order to estimate feed intake samples of leftovers from each animal were first composited weekly and then composited every 28 days.

On the last day of each experimental period (d 28, d 56 and d 84) blood samples were collected after a solid fast of 16 h, immediately before morning feeding. One blood sample (10 mL) was harvested without additives (BD Vacutainer, Franklin Lakes, NJ) for insulin concentration analysis. A second blood sample (5 mL) was collected in a tube containing 5 mg of sodium fluoride and 4 mg of potassium oxalate (BD Vacutainer) for subsequent glucose determination. All blood samples were centrifuged at $1,500 \times g$ at 4°C for 15 min, and the plasma and serum were stored at -20°C until further insulin analysis, while glucose determination was performed immediately after collection.

A digestion trial was conducted to determine diet DE. Fecal excretion was estimated using the indigestible NDF (iNDF) as an internal marker. The iNDF contents in forage, orts and feces were obtained by a 240 h in situ rumen incubation procedure (Casali et al. 2008). Feces were collected at 0800 on d 42, at 1200 on d 43, and at 1800 on d 44.

Samples composed of supplied feed, feces and orts was analyzed for DM, organic matter (OM), CP, ether extract (EE), and ADF, as described by Association of Official Analytical Chemists (AOAC 1990). For analyzing the neutral detergent fiber (NDF) concentration, the samples were treated with alpha thermostable amylase without sodium sulfite and corrected for ash residue (Mertens 2002) and residual nitrogen compounds (Licitra et al. 1996).

The apparent total digestible nutrients (TDN) were calculated as $(\text{CP intake} - \text{fecal CP}) + (\text{NDF intake} - \text{fecal NDF}) + (\text{NFC intake} - \text{fecal NFC}) + [2.25 \times (\text{EE intake} - \text{fecal EE})]$ (Sniffen et al. 1992). The non-fiber carbohydrate content, corrected for ash

and protein (NFC), was calculated as proposed by Hall (2000): $NFC = 100 - [(\%CP - \%CP \text{ derived from urea} + \% \text{ urea}) + \%NDFap + \%EE + \%Ash]$.

The levels of digestible energy (DE) and metabolizable energy (ME) were calculated according to NRC (2001), where $DE (Mcal.kg^{-1}) = DCP \times 5.6 + DEE \times 9.4 + DNDFap \times 4.2 + DNFC \times 4.2$ and $ME (Mcal.kg^{-1}) = 1.01 \times DE - 0.45$. Where DCP = digestible crude protein, DEE = digestible ether extract, DNDFap = digestible neutral detergent fiber corrected for ash and protein, and DNFC = digestible non-fiber carbohydrate.

The animals were weighed at the beginning and end of the experiment, always after a 16h solid fast to determine average daily gain (ADG).

At the end of the experiment all the animals were slaughtered after the 16h solid fast by cerebral concussion followed by jugular and carotid venesection, according to the normative instruction n°.3 of 01/13/2000 (Technical Regulation of Methods for Humane Slaughtering of Livestock).

After slaughtering, the gastrointestinal tract of each animal was emptied and, together with the other organs, was washed, weighed, and added to the remaining body parts (carcass, head, skin, tail, legs, and blood) to determine the empty body weight (EBW). The relationship obtained between EBW and BW of the control animals slaughtered at the beginning of the experiment, as well as the initial carcass yield, were used to estimate EBW and initial carcass weight, resulting in an estimate of the daily average empty body weight gain (EBWG) and the carcass average gain.

Each animal carcass was cut symmetrically into two halves and refrigerated in 4°C chambers for approximately 24 h. Then, the carcass halves were taken from the cooling chambers and weighed again. In the right half of the carcass the length and the commercial cut yield was measured after separation of the anterior and posterior quarters by cutting between the fifth and sixth ribs. The forequarter consisted of the chuck and shoulder, and the hindquarter consisted of the flank, round and rumpsteak. Longissimus muscle area (LMA) and rib fat thickness (RFT) were measured at 12th rib height on the left side of the carcass. After LMA and RFT measurements were taken, a section between the 9th and 11th rib was sampled for dissection. The section between the 9th and 11th ribs each carcass that was manually separated into bone, muscle, and

fat, which were weighed separately to determine the physical composition of the carcass, according described by Hankins and Howe (1946) and estimation of muscle, bone, and fat tissue proportions, according by Hankins and Howe (1946):

$$\text{Muscle proportion: } Y = 16.08 + 0.80 \times X$$

$$\text{Fat tissue proportion: } Y = 3.54 + 0.80 \times X$$

$$\text{Bone proportion: } Y = 5.52 + 0.57 \times X$$

After that, fat and lean tissues from the section rib of the carcass were ground separately, homogenized, and proportionately sampled. Then, these samples were liofilized for 36 h and partially defatted by washing with petroleum ether. The amount of fat was calculated by weight difference. All liofilized samples were grounded using a ball mill and analyzed for DM, EE and CP to AOAC (1990). The total fat content of each sample was the sum of the partial fat (washed with petroleum ether) and the ether extract (washed with diethyl ether).

The physical composition (protein, ether extract and moisture chemical proportions) was determined according to the equations by Valadares Filho et al. (2010):

$$\text{Protein proportion: } Y = 17.92 + 0.60 \times X - 0.17 \times DY$$

$$\text{Ether extract proportion: } Y = 4.31 + 0.31 \times X + 1.37 \times VF$$

$$\text{Moisture: } Y = 46.69 + 0.32 \times X - 0.017 \times EBW$$

where: X = percentage of components in the rib cuts, DY = Dressed yield, and VF = visceral fat, %EBW.

Statistical analysis

The experiment was analyzed the complete randomized design, and the data were submitted to variance analysis. Comparisons between treatment means were performed in accordance with the following orthogonal contrasts: linear and quadratic effects for the substitution level of corn ground with crude glycerin. Statistical analyses

were performed using the procedure PROC GLM SAS 9.0 (SAS, 2005). The 0.05 level of probability was adopted for the type I error.

RESULTS AND DISCUSSIONS

Plasma glucose concentration was not affected ($P > 0.05$) by the inclusion of crude glycerin in the diets (79.17 ± 11.87 ; Table 2). However, the glycerol absorbed and the propionate produced by ruminal fermentation are both precursors for hepatic glucose synthesis (Johns, 1953). It suggests that plasma glucose concentration increase with crude glycerin inclusion in the diet. As shown by Schwalm and Schultz (1976), a significant correlation (+ 0.35) between blood glucose and serum insulin exist which may explain the linear increase ($P < 0.05$) of serum insulin concentration with the increase of the levels of crude glycerin observed in this Trial.

We believe that blood sampling by puncture on jugular vein is very stressful for the animals which have been reported to cause an elevation in plasma glucose concentrations (Kent and Ewbank, 1986), primarily due to breakdown of glycogen by the liver (Murray et al., 1990). Therefore, the values of glucose concentration between the treatments may have been affected by stress of the cattle during blood sampling. In addition, González et al. (2002) report that ruminants have high ability to keep their blood glucose, which also may explains these results.

Table 2 - Serum insulin and plasma glucose concentration of finishing bulls fed with diets containing different crude glycerin content

Item	Crude glycerin, % of DM					SEM	P-value	
	0	5	10	15	20		Linear	Quadratic
Insulin, $\mu\text{g.L}^{-1}$	0.68	0.76	0.67	0.79	1.01	0.1705	0.0170	0.1287
Glucose, mg/dL	74.67	81.00	82.17	80.50	77.83	11.7770	0.6872	0.2637

Average intake of dry matter (DM) (9.56 ± 0.9823 kg/d and 2.24 ± 0.1591 %BW), and diet constituents were not affected ($P > 0.05$) by dietary glycerin levels (Table 3). This suggests that the crude glycerin studied was well accepted by ruminant animals and seems to have no intake inhibitor according to palatability.

Table 3 – Intake of diet constituents by beef cattle fed with different levels of crude glycerin

Item	Crude glycerin, % of DM					SEM	P-value	
							Linear	Quadratic
	0	5	10	15	20			
	kg.d ⁻¹							
DM	9.59	10.16	9.01	9.65	9.39	0.9823	0.9385	0.9134
OM	9.20	9.72	8.60	9.16	8.90	1.1213	0.8733	0.9015
CP	1.36	1.42	1.25	1.34	1.31	0.1657	0.7216	0.7646
EE	0.33	0.37	0.35	0.35	0.35	0.0401	0.3645	0.5725
NDF	3.03	3.05	2.79	2.89	2.74	0.4128	0.7616	0.9346
NFC	4.88	5.19	4.67	4.96	4.88	0.5915	0.9528	0.9562
TDN	6.86	7.19	6.55	7.02	7.06	0.7559	0.8515	0.6236
	BW.d ⁻¹ , %							
DM	2.23	2.36	2.16	2.21	2.22	0.1591	0.8763	0.9134

¹/ DM = dry matter intake; OM = organic matter intake; EE = ether extract intake; CP = crude protein intake; NDF = neutral detergent fiber corrected for ash and protein intake; NFC = Non-fiber carbohydrates corrected for ash and protein intake.

In agreement with our results, Donkin et al. (2009) observed no differences in total DMI when glycerol replaced up to 15% of dietary DM in diets of lactating dairy cows. Likewise, Pyatt et al. (2007), Mach et al. (2008), and Moriel et al. (2011) reported no effect on total DMI, in feedlot beef cattle fed crude glycerin up to 10%, 12% and 15% of concentrate DM, respectively. Taken together, these results indicate that glycerol may be added in diets of finishing beef cattle at high levels without deleterious effects. However our study shows that the inclusion level could be higher than those recommendations, i.e., up to 20% of DM.

According to Valadares Filho et al. (2010) recommendation the diets should be formulated to be 14.66% of the CP content to attend the nutritional requirements of finishing beef bulls with expected ADG of 1.50 kg.d⁻¹ and mean BW of 413 kg. However, after analyze the nutrient composition of the diets the mean of CP (13.20% of DM; Table 1) was 9.99% less than expected. Although this was not expected, the CP intake (1.31 ± 0.1657 kg/d; Table 3) was still 2.19% greater than the recommendation of these authors. This compensation can be justified because the DMI recommended by those authors (8.77 kg/d) also have been 6.90% less than observed in our study.

The level of crude glycerin inclusion did not alter ($P < 0.05$) the total and diet nutrients apparent digestibility, and energetic value (DE and ME, Mcal.kg⁻¹ of DM; Table 4) of the diets. The average of DM, OM, CP, EE, NDF, NFC and TDN were 664.6 ± 41.0632, 683.1 ± 42.3368, 686.9 ± 61.1845, 480.0 ± 71.8394, 800.3 ± 49.8586, 816.5 ± 55.3010 and 728.6 ± 44.0984 g.kg⁻¹, respectively. These data are in accordance with previous observations reported by Khalili et al. (1997) who demonstrated the lack of effect of glycerol on total-tract digestibility of DM, OM, and all diet nutrients.

However, theses results also suggest tendence to improve DM and diet compounds digestibility and TDN when crude glycerin is included on beef finishing diets.

Digestibility is the result of the competition between digestion and passage rates. Passage rate is positively correlated with the DMI. Thus, the absence of crude glycerin effect on the intakes of DM, OM, and all dietary constituents and similarity of the others ingredients composition in the all diets can explain these results.

Some studies have reported reduction in NDF digestibility (Ribeiro et al., 2005; Castillejos et al., 2006) with crude glycerin inclusion. These authors reported association effect between fiber digestibility and level glycerol increased. The tendency for a reduction in NDF digestibility was not matched by reductions in OM, DM or any other nutritional compound digestibility or by a corresponding reduction in intake. High glycerol amount in bacterial culture media *in vitro* inhibited growth and cellulolytic activity of *Ruminococcus flavefaciens* and *Fibrobacter succinogenes*, although bacterial adherence to cellulose was not affected (Roger et al., 1992). The current data suggests that glycerol does not decrease total digestibility of NDF ($P > 0.05$). However, additional

data are necessary to confirm this response and to determine the site of its occurrence and causation *in vivo*.

The *in vitro* digestibility of NDF determined after 48 h incubation did not differ among which treatments which are consistent with the linear decline of the gas production in the fiber fraction as glycerol levels increased (Kruege et al., 2010). Additionally, this is also consistent with previous research which shows that feeding levels of glycerol up to 20% of the total ration does not have any effect on nutrient digestibility or animal performance (Donkin and Doane, 2007; Kerley, 2007; Schroder and Sudekum 1999).

Table 4 – Total apparent digestibility and levels of total digestible nutrients, digestible energy and metabolizable energy in beef cattle fed with different levels of crude glycerin

Item ¹	Crude glycerin, % of DM					SEM	P-value	
							Linear	Quadratic
	0	5	10	15	20			
	% of DM							
DM	65.14	65.14	65.97	66.72	69.33	4.1063	0.0711	0.4177
OM	66.79	67.09	67.60	69.01	71.04	4.2337	0.0671	0.5086
CP	67.70	71.55	67.39	67.56	69.23	6.1184	0.8947	0.9906
EE	78.58	77.01	81.69	81.19	83.03	4.9859	0.0520	0.8305
NDF	46.94	47.26	47.75	49.52	48.51	7.1839	0.5649	0.9000
NFC	80.62	78.59	81.26	82.38	85.38	5.5301	0.0733	0.3230
TDN	71.57	70.82	73.37	73.26	75.26	4.4098	0.0981	0.6839
	Mcal.kg ⁻¹ of DM							
DE	3.14	3.11	3.21	3.21	3.29	0.1927	0.9541	0.6786
ME	2.72	2.69	2.79	2.79	2.88	0.1937	0.9541	0.6841

¹/ DM = dry matter; OM = organic matter; EE = ether extract; CP = crude protein; NDFap = neutral detergent fiber corrected for ash and protein; NFCap = non-fiber carbohydrates corrected for ash and protein; TDN= total digestible nutrients; DE = digestible energy; ME = metabolized energy.

Digestibility is the result of the competition between digestion and passage rates. Passage rate is positively correlated with the DMI. Thus, the absence of crude glycerin

effect on the intakes of DM, OM, and all dietary constituents and similarity of the others ingredients composition in the all diets can explain these results.

Some studies have reported reduction in NDF digestibility (Ribeiro et al., 2005; Castillejos et al., 2006) with crude glycerin inclusion. These authors reported association effect between fiber digestibility and level glycerol increased. The tendency for a reduction in NDF digestibility was not matched by reductions in OM, DM or any other nutritional compound digestibility or by a corresponding reduction in intake. High glycerol amount in bacterial culture media *in vitro* inhibited growth and cellulolytic activity of *Ruminococcus flavefaciens* and *Fibrobacter succinogenes*, although bacterial adherence to cellulose was not affected (Roger et al., 1992). The current data suggests that glycerol does not decrease total digestibility of NDF ($P > 0.05$). However, additional data are necessary to confirm this response and to determine the site of its occurrence and causation *in vivo*.

The *in vitro* digestibility of NDF determined after 48 h incubation did not differ among which treatments which are consistent with the linear decline of the gas production in the fiber fraction as glycerol levels increased (Kruege et al., 2010). Additionally, this is also consistent with previous research which shows that feeding levels of glycerol up to 20% of the total ration does not have any effect on nutrient digestibility or animal performance (Donkin and Doane, 2007; Kerley, 2007; Schroder and Sudekum 1999).

Several results also suggest that glycerol increase lipid digestibility just when added in combination with plant derived fatty acids, but have no effect when added alone (Khalili et al., 1997). Therefore, our results are consistent since glycerin inclusion did not interfere ($P > 0.05$) on the digestibility of EE as the dietary contents of EE were low. It is unclear the interaction of glycerol and fatty acids that result on increase lipid digestibility (Khalili et al., 1997).

Overall, animal performance was not affected by crude glycerin inclusion ($P > 0.05$, Table 5) although the diets had been formulated to expected ADG lower than observed. These results are in agreement with results from previous studies evaluating the performance of finishing cattle fed crude glycerin (Mach et al., 2008; Terré et al.,

2011). Those authors evaluated levels of crude glycerin inclusion up to 12 and 10 % on DM, respectively.

Table 5 – Performance of cattle fed with different levels of crude glycerin

Item	Crude glycerin, % of DM					SEM	P-value	
	0	5	10	15	20		Linear	Quadratic
Initial BW, kg	349.5	340.67	337.25	340.92	351.17	16.0652	0.0910	0.0645
Final BW, kg	509.67	518.17	493.00	503.5	523.5	28.7407	0.2482	0.1856
ADG, kg/d	1.90	2.12	1.85	1.96	2.07	0.2532	0.8095	0.6824
EBWG ¹ , kg/d	1.92	2.17	1.90	2.07	2.15	0.2596	0.9508	0.8153
CDG ² , kg/d	1.39	1.53	1.31	1.46	1.54	0.1945	0.5854	0.3897
G:F ³	0.200	0.210	0.210	0.211	0.217	0.0184	0.4205	0.7515
Carcass deposition efficiency ⁴	0.146	0.153	0.149	0.157	0.162	0.0162	0.6544	0.4457

¹/ EBWG = Empty body daily weight gain

²/CDG = Carcass daily weight gain

³/ G:F = Gain:feed

⁴/CDG/DMI, kg/kg

The determination of the EBWG of the animals was used in this study to eliminate errors due to variations in gastrointestinal contents of animals (Lana et al., 1992). The EBWG is an important variable in animal performance studies, mainly in cases such as the current work that the objective was the substitution of corn ground (moderate degradability) with crude glycerin (fast degradability). Estimates from disappearance glycerol indicate that more than 85% of glycerol in the rumen disappears within 2 hours in cattle adapted to glycerol feeding (Kijora et al., 1998). Likewise, previously studies suggest that a portion of the glycerol entering the rumen can be absorbed directly (Rémond et al., 1993). Therefore, no effect on EBWG (2.04 ± 0.2506) with the level crude glycerin increased in diets of finishing bulls provides the veracity of the results on final BW (512.93 ± 28.7407) and ADG (1.98 ± 0.2532) or eliminate the influence of gastrointestinal contents in these variables.

In contrast to these no significant differences on ADG, Parsons et al. (2009) reported a quadratic effect with addition of crude glycerol in diet of heifers. They reported average daily gains increasing up 8 % (0, 4 and 8% of DM) but at 12 and 16 %, ADG were reduced. Pyatt et al. (2007) also demonstrated increased ADG in finishing cattle when glycerin replaced 0 or 10% corn in DM diets. In both studies the feed efficiency was also improved when glycerin was included unlike our results that found no difference among treatments.

The lack of differences in G:F (0.210 ± 0.0184), and carcass deposition efficiency (0.153 ± 0.0162) among bulls fed increasing levels of crude glycerin suggests that, in addition to being formulated to be isonitrogenous, the supplements provided the same amount of energy, i.e., corn ground and crude glycerin can be isocaloric (Table 4).

The measurements of carcass characteristics and basic cut yields of cattle fed with different levels of crude glycerin are presented in Table 6. The inclusion of crude glycerin on diet did not affect ($P > 0.05$) carcass dressing percentage (59.72 ± 1.2950 %), LMA (78.09 ± 7.3424 cm²), Rip fat thickness (5.28 ± 2.13 mm) and carcass length (COMP, 136.42 ± 2.5568 cm). Mach et al. (2008) also reported no effect on carcass characteristics data when feeding Holstein bulls finishing diet with crude glycerin level. Even in the currently study, means of dressing percentage and LMA were greater than those authors (52.6% and 39.8 cm², respectively). In addition, Parsons et al. (2009) did not find effect by inclusion of crude glycerin in diets to heifers on rip fat thickness.

A quadratic effect was observed ($P < 0.05$) for chuck and shoulder yield. The chuck yields increased as the level of crude glycerin increased up 20% of DM (25.18 %). For the shoulder yield the regression equation firstly shows an increase up to 9.78% crude glycerin inclusion followed by average decrease. For the remaining basic cut yield and carcass characteristics no effect was observed ($P > 0.05$).

The degree of boneless and fat-trimmed meat cut yield is an estimate of marketable meat quantity or edible proportion of a carcass. According to Luchiari Filho (2000), it is desirable for a carcass to contain approximately 45-50% subprime (rumpsteak and round), 38-43% forequarter with 5 ribs and 12-16% flank. Although chuck and shoulder yield was affected by inclusion of crude glycerin, it did not affect the forequarter yield which is an important commercial quality trait commercial. Although the

results of the present work did not show a crude glycerin effects ($P > 0.05$), they were within the reference values mentioned above: $45.29\% \pm 1.2903$, $40.96\% \pm 2.6499$, and $13.75\% \pm 2.1064$ to subprime, forequarter and flank, respectably. To our knowledge, data regarding carcass characteristics and commercial cut yields on beef cattle, fed crude glycerin are scarce.

Table 6 - Carcass characteristics and commercial cut yields of cattle fed with different levels of crude glycerin

Item	Crude glycerin, % of DM					SEM	P-value	
	0	5	10	15	20		Linear	Quadratic
Carcass characteristics								
Dressing percentage	59.24	59.66	59.40	60.30	59.98	1.2950	0.7401	0.9335
COMP ¹ , cm	134.64	136.83	135.83	136.17	138.67	2.5568	0.8739	0.5989
Rib fat thickness, mm	4.54	5.68	5.69	4.93	5.58	2.1331	0.5157	0.5904
LM area, cm ²	73.43	81.57	74.34	80.35	80.76	7.3424	0.5967	0.9460
Basic cut yield, %								
Forequarter	41.60	38.35	41.50	41.25	42.10	2.6139	0.4137	0.2372
Chuck	24.53	20.50	23.14	22.82	25.18	2.9313	0.0778	0.0369
Shoulder	17.07	17.85	18.35	18.43	16.92	1.1825	0.0116	0.0100
Hindquarter	58.40	61.65	58.5	58.75	57.89	2.6141	0.4152	0.2382
Rumpsteak	18.20	18.38	17.66	17.64	17.22	0.9679	0.7866	0.7273
Round	26.99	27.58	27.42	27.93	27.42	0.9682	0.2180	0.3129
Flank	13.21	15.70	13.43	13.17	13.26	2.1239	0.5724	0.3982

¹/ COMP = carcass length.

The degree of carcass finishing score is evaluated by rib fat thickness (RFT), which is the characteristic with the greatest impact on yield, as lean meat yield decreases with an increase in RFT. The main function of subcutaneous fat is cold

protection, avoiding cold shortening (sarcomere cold shortening), which is responsible for meat toughness. At the end of the experiment, all of the animals presented adequate finishing (5.28 ± 2.13 mm), meeting Brazilian market requirements, as they presented greater than 3 mm fat thickness in the carcass, (Luchiari Filho, 2000).

No effect of crude glycerin inclusion also was observed ($P > 0.05$) on the yield of carcass meat cuts (Table 6) and body composition (Table 7). The lack of effect on body composition may be due to the lack of difference in nutrients intake and digestibility (Tables 3 and 4). Thus, the digestible protein and energy that reaches the small intestine was enough to meet the animal requirements.

Determination of animal body composition is the first step in estimating their nutritional requirements; therefore, determinations of carcass physical and chemical composition are very important. The proportion of tissues of the carcass is directly related to its quality. On the other hand, the opposite is also true. Level of crude Glycerin no affect ($P > 0.05$) body composition and gain composition among treatments (Table 7). Thus, it appears that both maize as glycerin the nutritional requirements similarly, although having peculiarities relating to the way of use in animal metabolism.

Unfortunately, no data with regard to physical and chemical composition of the carcass from cattle fed crude glycerin were found in the literature for comparisons.

Table 7 - Carcass physical and chemical composition of cattle fed with different levels of crude glycerin

Item	Crude glycerin, % of DM					SEM	P-value	
	0	5	10	15	20		Linear	Quadratic
Physical composition, %								
Muscle	61.62	61.97	60.14	59.83	60.57	2.9407	0.4277	0.6154
Fat	22.40	21.91	23.18	22.83	24.08	3.1516	0.9440	0.7029
Bones	15.98	16.12	16.68	17.34	15.36	1.3570	0.0668	0.0561
Chemical composition, %								
Ether extract	15.52	15.86	15.99	15.85	16.57	1.4195	0.9135	0.8271
Protein	15.94	16.19	16.03	15.32	16.03	1.3048	0.6909	0.8560
Moisture	58.00	57.13	57.90	58.20	57.17	1.6240	0.7803	0.7528
Physical composition of carcass gain, %								
Muscle	52.38	53.15	55.42	57.10	52.41	7.8691	0.6963	0.3472
Fat	38.31	36.89	35.38	32.83	37.81	7.9540	0.6254	0.3419
Bones	9.31	9.95	9.20	10.07	9.78	0.0839	0.3146	0.8362
Chemical composition of carcass gain, %								
Ether extract	27.35	26.29	26.02	26.40	28.16	4.0648	0.7595	0.3282
Protein	15.45	13.82	15.52	16.55	15.86	3.3849	0.4180	0.8247
Moisture	57.22	59.78	58.46	57.05	55.98	4.9099	0.4177	0.3364

IMPLICATIONS

Crude glycerin can be used as a replacement of corn ground in beef cattle diets at levels up to 20% of the DM without detrimental effects on intake, animal performance, carcass and basic cut yields. It can be concluded that crude glycerin can be effectively used as an alternative energy source as a substitute of cereals in the diet of beef cattle.

LITERATURE CITED

Association of Official Analytical Chemists - AOAC, 1990. Official methods of analysis 15th ed., AOAC International, Arlington, VA.

Casali, A.O., E. Detmann, S. C. Valadares Filho, J. C. Pereira, L. T. Henriques, S. G. Freitas, and M.F. Paulino. 2008. 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. 37: 335–342.

Castillejos, L., S. Calsamiglia, and A. Ferret. 2006. Effect of essential oils active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in in vitro systems. J. Dairy Sci. 89, 2649–2658.

Crandall, L. 2004. Glycerol abundance cause for concern. Inform 15:146–147.

Dasari, M. A., P. P. Kiatsimkul, W. R. Sutterlin, and G. J. Suppes. 2005. Low-pressure hydrogenolysis of glycerol to propylene glycol. Appl. Catalysis A 281:225–231.

Donkin, S. S., S. L. Koser, H. M. White, P. H. Doane, and M. J. Cecava. 2009. Feeding value of glycerol as a replacement for corn grain in rations fed to lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 92:5111–5119.

Donkin, S.S., Doane, P., 2007. Glycerol as feed ingredient in dairy rations. In: Proceedings of the 2007 Tri-State Dairy Nutrition Conference , pp. 97–103. FIL-IDF,

International Dairy Federation, 1999. Milk Fat. Preparation of Fatty Acid Methyl Esters. IDF, Brussels, Belgium, Standard 182.

Hall, M.B., 2000. Calculation of non-structural carbohydrate content feeds that contain non-protein nitrogen. Tech. Bull. No. 339. ed. University of Florida. PA-25.

Hankins, O. G. and P. E. Howe. 1946. Estimation of the composition of beef carcasses and cuts. Tech. Bull. No. 926. ed. United States Department of Agriculture. 1-19.

Johns, A. T. 1953. Fermentation of glycerol in the rumen of sheep. N. Z. J. Sci. Technol. 35:262–269.

Kent, J. K. and R. Ewbank. 1986. The effect of road transportation on the blood constituents and behavior of calves. II. One to three weeks old. Br. Vet. J. 142:131-140.

Kerley, M.C. 2007. Could glycerin – a biodiesel byproduct – be used as a cattle feed? Sci. Daily. <http://www.sciencedaily.com/releases/2007/05/070525090245.htm> (accessed 9.10.2011).

Khalili, H., T. Varvikko, V. Toivonen, K. Hissa, and N. Suvitie. 1997. The effects of adding glycerol or unprotected free fatty acids or a combination of two on silage intake, milk production, rumen fermentation and diet digestibility in cows given grass silage base diets. Agric. Food Sci. Finl. 5/6:349–362.

Kijora, C., H. Bergner, K. P. Gotz, J. Bartelt, J. Szakacs, and A. Sommer. 1998. Research note: investigation on the metabolism of glycerol in the rumen of bulls. Arch. Tierernahr. 51:341–348.

Krueger, N.A., R. C. Anderson, L.O. Tedeschi, et al. 2010. Evaluation of feeding glycerol on free fatty acid production and fermentation kinetics in vitro. Bioresource Technology. 101:8469–8472.

Lana, R. P., C. A. A. Fontes and C. A. C. Morais. 1992. Predição do peso de corpo vazio com base no peso de carcaça e peso vivo, em bovinos. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 29. Lavras. Anais. Lavras:SBZ. p. 165.

Licitra, G., T. M. Hernandez, and P. J. Van Soest. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol*, 57:347–358.

Luchiari Filho, A. 2000. Pecuária da carne bovina. 1^a ed. – São Paulo: A. Luchiari Filho. p. 134.

Mach, N., A. Bach, and M. Devant. 2008. Effects of crude glycerin supplementation on performance and meat quality of Holstein bulls fed high-concentrate diets. *J. Anim. Sci.* 87:632-638.

Mertens, D. R. 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beaker or crucibles: collaborative study, *Journal of AOAC International*, 85: 1217–1240.

Moriel, P., V. Nayigihugu, B. I. Cappellozza, E. P. Gonçalves, J. M. Krall, T. Foulke, K. M. Cammack, and B. W. Hess. 2011. Camelina meal and crude glycerin as feed supplements for developing replacement beef heifers. *J. Anim. Sci.* 89:4314-4324.

Murray, R. K., D. K. Granner, P. A. Mayes, and V. W. Rodwell. 1990. Gluconeogenesis and control of the blood glucose: Hormone of the adrenal cortex and adrenal medulla. In: Harper's Biochemistry (12th Ed.). Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ.

National Research Council - NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. National Academy Press. Washington, DC.

Parsons, G. L., M. K. Shelor, and J. S. Drouillard. 2009. Performance and carcass traits of finishing heifers fed crude glycerin. *J. Anim. Sci.* 87:653–657.

Pyatt, N. A., P. H. Doane, and M. J. Cecava. 2007. Effect of crude glycerin in finishing cattle diets. *J. Anim. Sci.* 85(Suppl.1):530. (Abstr.)

Rémond, B., E. Souday, and J. P. Jouany. 1993. In vitro and in vivo fermentation of glycerol by rumen microbes. *Anim. Feed Sci. Technol.* 41:121–132.

Ribeiro, C.V.D.M., S. K. R. Karnati, M. L. Eastridge. 2005. Biohydrogenation of fatty acids and digestibility of fresh alfalfa or alfalfa hay plus sucrose in continuous culture. *J. Dairy Sci.* 88, 4007–4017.

Roger, V., G. Fonty, C. Andre, and P. Gouet. 1992. Effects of glycerol on the growth, adhesion, and cellulolytic activity of rumen cellulolytic bacteria and anaerobic fungi. *Curr. Microbiol.* 25:197–201.

SAS Institute. 2005. SAS system for windows: version 9.0. Cary: SAS Institute.

Schroder, A., and H.-K. Sudekum. 1999. Glycerol as a by-product of the biodiesel production in diets for ruminants. 10th International Rapeseed Congress. Canberra, Australia. <http://www.regional.org.au/au/gcirc/1/241.htm> (accessed 5.29.2012).

Schwalm, J. W. and L. H. Schultz. 1976. Relationship of insulin concentration to blood metabolites in the dairy cow. *J. Dairy Sci* 59:255-261.

Sniffen, C. J., J. D. O'Connor, and P. J. Van Soest. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: carbohydrate and protein availability, *J. Anim. Sci.* 70:3562–3577.

Terré, M., A. Nudda, P. Casado and A. Bach. 2011. The use of glycerine in rations for light lamb during the fattening period. *Animal Feed Science and Technology.* 164:262-267.

Valadares Filho, S. C., P. V. R. Paulino, M I. Marcondes, and M. L. Chizzotti. 2010. Exigências nutricionais de zebuínos puros e cruzados. BR-CORTE. 2th ed. UFV: DZO. Viçosa, MG p. 185.

Verseman, B. A., B. R. Wiegand, M. S. Kerley, J. H. Porter, K. S. Roberts, and H. L. Evans. 2008. Dietary inclusion of crude glycerol changes beef steer growth performance and intramuscular fat deposition. J. Anim. Sci. 86(E-Suppl. 2):478. (Abstr.)

Capítulo IV

Influências da inclusão da glicerina bruta sobre os parâmetros qualitativos da carne e carcaça bovina

RESUMO: Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito de inclusão da glicerina bruta em substituição ao milho em dietas de bovinos de corte terminados em confinamento, sobre as características qualitativas da carne. Foram utilizados 30 bovinos machos não castrados, mestiços (Nelore x Red Angus) e com peso inicial médio de $343,9 \pm 16,56$ kg. Os animais permaneceram 84 dias em confinamento, sendo alimentados individualmente e abatidos ao final do período experimental. Após resfriamento, as carcaças foram pesadas e realizou-se a mensuração do pH. Em seguida foram coletadas amostras do músculo *Longissimus dorsi*, entre a 9^a e 11^a costelas para realização das análises de qualidade de carne. Não houve efeito do nível de inclusão de glicerina ($P > 0,05$) sobre consumo de energia metabolizável, relação entre insulina e glicose e composição química da carne, exceto para o teor de água. Da mesma forma, a proporção de fibras no músculo não foi afetada ($P > 0,05$). No entanto a área de seção transversal das fibras do tipo I e IIA aumentaram ($P < 0,05$) com a inclusão de glicerina bruta. O peso final quente e frio e pH inicial e final da carcaça também não foram afetados pelos tratamentos sendo os valores médios encontrados para essas características igual a 308,09 kg; 301,26, kg; 7,10 e 5,72, respectivamente. A força de cisalhamento, índice de fragmentação miofibrilar e teores de colágeno total e solúvel não foram influenciados ($P > 0,05$) pela inclusão de glicerina bruta. Em relação às perdas de exsudado da carne também não foram detectadas diferenças ($P > 0,05$) entre os tratamentos. Os valores de luminosidade (L^*), intensidade de vermelho (a^*) e intensidade de amarelo (b^*) da carne não diferiram ($P > 0,05$). A inclusão de glicerina bruta até 20% da matéria seca total não afeta as principais características qualitativas da carne e da carcaça.

Palavras chave: glicerol, gordura intramuscular, qualidade de carne,

Influence of crude glycerin on beef carcass yield and meat quality parameters

ABSTRACT: This study was conducted aiming to evaluate the effect of replacing corn by crude glycerin on beef meat quality. Thirty crossbred bulls (Nellore x red Angus) were used, with 343.9 ± 16.56 kg of body weight. These animals were individually fed during 84 days and slaughtered at the end of the trial. After 24-h chill, data of carcass weight and pH. After carcass data collection, a boneless *Longissimus dorsi* section between the 9th and 11th ribs was removed, vacuum packaged, frozen and held at -20°C . No effect of inclusion level of glycerin ($P > 0.05$) on metabolizable energy intake, insulin to glucose ratio and meat chemical composition, except to moisture. Similarly, muscle fibers proportions were unaffected by treatment. However, an increased fiber diameter to type I and IIA was observed ($P < 0.05$) in bulls fed with crude glycerin. The final weight to fresh and cold carcass and initial and final pH also were unaffected by treatments. The Warner-Bratzler shear force, myofibrillar fragmentation index and total and collagen solubility were not affected ($P > 0.05$) by the crude glycerin level. No changes were observed ($P > 0.05$) to meat losses by the treatments. The crude glycerin level did not affect ($P > 0.05$) the instrumental color of the *Longissimus*. The means to L*, a* and b* were unaffected. In addition, diets containing up to 20% of crude glycerin on dry matter can be used in diets for finishing beef cattle because it does not lead to detrimental effects on carcass traits and meat quality variables.

Key words: glycerol, marbling, meat quality

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, vem sendo observada maior exigência dos consumidores quanto à qualidade da carne. Estes têm se mostrado preocupados em consumir produtos oriundos de cadeias produtivas que adotam práticas ambientalmente corretas, socialmente justas e que respeitem as normas vigentes de sanidade e higiene. Bem como atendam requisitos como suculência, maciez e teores de gordura de acordo com os diferentes mercados consumidores.

Nesse contexto, o sistema de engorda em confinamento apresenta-se como estratégia que permite produzir carne de qualidade, com valor agregado e, sobretudo, ao longo de todo o ano através do fornecimento de dietas com elevada densidade energética. Porém, a alimentação, principalmente neste tipo de sistema, é o item de maior peso no custo final e a busca por alternativas que reduzam o custo é preocupação constante das indústrias do setor.

O conteúdo energético das dietas fornecidas aos bovinos em terminação afeta significativamente as características de carcaça, qualidade de carne e composição química dos músculos. A utilização de alimentos alternativos, que permitam preservar os altos níveis energéticos destas dietas e que, conseqüentemente, não interfiram na qualidade da carne, e ainda, possibilitem redução dos custos com alimentação é, sem dúvida, uma constante busca dos nutricionistas na bovinocultura de corte.

Com a inserção do biodiesel na matriz energética brasileira, vislumbrou-se a perspectiva de alta disponibilidade com baixo custo dos coprodutos oriundos da agroindústria do biodiesel. Dentre eles, a glicerina bruta se destaca como potencial ingrediente para complementar a dietas dos ruminantes.

Além disso, a glicerina bruta parece causar alterações sobre a qualidade e composição da carcaça e qualidade sensorial da carne, que ainda precisam ser mais bem investigados (Drouillard, 2008). Os possíveis efeitos do fornecimento de glicerina bruta na dieta de bovinos de corte sobre a qualidade da carne e da carcaça poderiam estar relacionados, principalmente, ao aumento na disponibilidade de compostos gliconeogênicos que seriam utilizados como precursores de ácidos graxos a serem

depositados de forma intramuscular, acarretando em melhorias no grau de marmorização da carne (Evans et al., 2008; Versemann et al., 2008). A deposição de gordura intramuscular utiliza glicose como principal fonte de carbono para a síntese de ácidos graxos (Schoonmaker et al., 2004), sendo direcionada também pela insulina, hormônio que estimula a incorporação de glicose em ácidos graxos intramusculares e subcutâneos em animais alimentados com altos níveis de concentrado (Rhoades et al., 2007; Smith et al., 2008). A inclusão de glicerina bruta na dieta de bovinos pode resultar, portanto, em incrementos na concentração de insulina plasmática e na relação insulina:glicose, acarretando maior síntese de gordura de marmoreio, conforme encontrado por Mach et al. (2008). Contudo, os efeitos do uso da glicerina sobre a qualidade da carcaça e da carne parecem ainda ser conflitantes, carecendo de maiores estudos.

Dessa forma, objetivou-se avaliar o efeito do nível de substituição do milho dietético pela glicerina bruta sobre os principais parâmetros químicos e físicos da carne de bovinos terminados em confinamento.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Animais do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG, Brasil.

Animais, Delineamento experimental e Dietas

Foram utilizados 30 bovinos, machos não castrados, cruzados (Red Angus x Nelore) com peso inicial médio $343,9 \pm 16,56$ kg. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e seis repetições.

Os cinco tratamentos avaliados foram definidos de forma a testar níveis de inclusão da glicerina bruta oriunda da indústria do biodiesel em dietas de bovinos de corte em confinamento. Desta forma, foram testados os níveis de 0, 5, 10, 15 e 20 % de glicerina bruta na matéria seca total da dieta. Para que isso fosse possível, o milho da dieta foi proporcionalmente substituído por uma mistura de glicerina bruta + glúten de milho, numa proporção de 0,85:0,15, de forma a manter as dietas isoprotéicas e

com quantidades similares de proteína advinda do milho, conforme sugerido por Donkin (2008). As dietas experimentais foram formuladas de acordo com Valadares Filho et. al. (2010) para atender as exigências nutricionais de bovinos mestiços não castrados, de peso corporal médio de 413 kg e ganho médio diário estimado em 1,5 kg/dia. As dietas experimentais encontram-se apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Proporção dos ingredientes e composição químico-bromatológica das dietas experimentais

Ítems	Glicerina bruta, % da Matéria Seca				
	0	5	10	15	20
Ingredientes, % da Matéria Seca					
Silagem de Milho	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00
Farelo de Soja	7,15	7,15	7,15	7,15	7,15
Milho Moído	40,70	34,80	29,00	23,10	17,20
Mistura Mineral ¹	0,50	0,50	0,50	0,60	0,70
Ureia/sulfato de amônio	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Glicerina	0,00	5,00	10,00	15,00	20,00
Glúten de Milho	0,00	0,90	1,70	2,55	3,40
Calcario	0,65	0,65	0,65	0,60	0,55
Composição bromatológica, % da Matéria Seca					
Matéria Orgânica	96,12	95,68	95,24	94,81	94,37
Proteína Bruta	13,10	13,17	13,19	13,24	13,28
Extrato Etéreo	3,16	3,30	3,43	3,57	3,70
FNDcp ²	32,07	31,37	30,69	29,99	29,29
CNF	51,31	51,35	51,45	51,53	51,61
Glicerol	0,00	4,03	8,05	12,08	16,11

¹/ Composição: 41.66 % de fosfato bicálcico; 56.79% de cloreto de sódio; 0.20% de sulfato de cobre; 1.19% de sulfato de zinco; 0.03% de iodato de potássio; 0.05% de sulfato de cobalto; 0.08% de selenito de sódio. Composição do mineral (por kg): 31.5g P; 31g S; 95g Na; 50g Mg; 1200 mg Mn; 3000 mg Zn; 600mg Fe; 600 mg cobre; 36mg I; e 10mg Se.

²/ Fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína.

Procedimentos experimentais e amostragens

O período experimental teve duração de 84 dias, precedidos de um período de adaptação de 30 dias dos animais às instalações do confinamento experimental; sendo individualmente alimentados com silagem de milho *ad libitum*, 2,0kg de milho quebrado e 50g de uréia/sulfato de amônio por dia.

A alimentação foi fornecida, na forma de ração completa *ad libitum*, sendo fracionada em duas porções de 70 e 30% do peso ofertado total, as quais foram fornecidas diariamente às 08:00 e 16:00 horas. A quantidade de alimento fornecida foi ajustada diariamente de forma a permitir sobras em torno de 5-10% do fornecido para todos os animais.

Durante os dias 28, 56 e 84, uma amostra de sangue (10 mL) foi coletada em tubos isentos de aditivos (BD Vacutainer, Franklin Lakes, NJ) para determinação das concentrações de insulina. Simultaneamente, uma segunda amostra foi coletada (5 mL) em tubo contendo 5 mg de fluoreto de sódio e 4 mg de oxalato de potássio (BD Vacutainer) para subsequente análise da concentração de glicose. Ambas amostras foram centrifugadas a $1500 \times g$ a 4°C por 15 minutos, as amostras de plasma para mensuração da insulina foram congeladas a -20°C para posteriores análises, enquanto as destinadas para determinar a concentração de glicose foram imediatamente analisadas.

Ao final do período experimental, todos os animais foram pesados, após jejum de sólidos de 16 horas, e em seguida abatidos utilizando a técnica de concussão cerebral e secção da veia jugular, seguido da remoção do couro e evisceração. As carcaças foram lavadas e divididas ao meio, resultando em duas meias-carcaças, momento em que foi mensurado o pH inicial, em ambas meias-carcaças, no músculo *Longissimus dorsi*, entre a 12ª e 13ª costela, utilizando-se peagâmetro específico para essa finalidade.

A partir de então, as meias-carcaças foram resfriadas a 0° C por 18 a 24 horas. Transcorrido o resfriamento, foi mensurado o pH final, conforme descrito acima. Neste momento as carcaças foram novamente pesadas.

Das meias-carcaças direita foi retirado o músculo *Longissimus dorsi* na altura da 11ª e 13ª costelas, que ficou 30 minutos exposto ao ar e, então, foi realizada à

mensuração da cor. Em seguida, os músculos foram embalados a vácuo em sacos de polietileno, identificados e armazenados em freezer a -20°C para posteriores análises de qualidade de carne. As amostras, ainda congeladas, foram subdivididas em quatro bifos com espessuras de 2,54 cm sendo cada um deles destinado a uma análise distinta. Antes da realização de cada análise, retirou-se a gordura e tecido conectivos aparentes.

Para análise histológica de fibra muscular, uma subporção de 1 cm^3 da região central do músculo *Longissimus dorsi* foi coletada após retirada do músculo da carcaça; estas amostras foram imediatamente congeladas em ultrafreezer (-80°C), para evitar a formação de cristais de gelo, que romperiam a estrutura celular.

Análise instrumental da cor

Para a análise de coloração da carne foram feitas leituras na superfície do músculo *Longissimus dorsi*, antes que fossem embaladas e congeladas. As amostras ficaram 30 minutos expostas ao ar em ambiente refrigerado (4°C) e então, realizada a leitura para as faixas de L^* , a^* , b^* conforme o sistema CIELAB, em colorímetro CR-400 (Konica Minolta) ajustado à fonte iluminante D65 e ângulo de 10° para o observador. O máximo valor de L^* (luminosidade) é 100 e representa uma perfeita reflexão difusa, enquanto que o valor mínimo é zero e caracteriza o preto. Os eixos a^* e b^* não apresentam limites numéricos específicos. A coordenada a^* varia do vermelho ($+a^*$) ao verde ($-a^*$) e a coordenada b^* do amarelo ($+b^*$) ao azul ($-b^*$) (Hunterlab, 1996). Os valores de L^* , a^* , b^* foram obtidos a partir de cinco leituras realizadas em pontos diferentes de cada bife.

Força de cisalhamento

Para determinação da força de cisalhamento foi utilizado o procedimento proposto por Wheeler et al. (2001). Os bifos, de 2,54 cm de espessura, foram descongelados sob refrigeração (4°C) durante 16 horas. Logo após o descongelamento, os bifos foram assados em forno elétrico pré aquecido a 150°C . No procedimento de cozimento foi introduzido no centro geométrico de cada bife um termoacoplador ligado em termômetro tipo K, para monitoramento da temperatura interna até que essa atingisse 71°C . Os bifos foram então colocados em resfriamento

(4°C) durante 16 horas. Decorrido esse tempo, foram retiradas oito amostras cilíndricas com 1,27 cm de diâmetro cada, paralelamente à orientação das fibras musculares, utilizando-se amostrador de aço inox. As amostras cilíndricas foram cisalhadas perpendicularmente à orientação das fibras musculares, utilizando-se lâmina de corte em V, com angulação de 60°, 1,016 mm de espessura e velocidade fixa de 20 cm/min, acoplada ao texturômetro Warner-Bratzler® (G-R Electrical Manufacturing Company, Manhattan – KS, USA).

Análise de perdas de exsudado da carne

Para determinação das perdas de exsudado da carne foram utilizadas as mesmas amostras da análise de força de cisalhamento. Os dados de perdas por exsudação foram obtidos pela pesagem de bandejas de cozimento com e sem amostras de carne. As pesagens foram realizadas antes e após o cozimento das amostras e a relação percentual de perda de peso das bandejas com amostras representou as perdas por evaporação. O acréscimo de peso das bandejas após o cozimento, sem amostras, representou as perdas por gotejamento que, acrescidas às perdas por evaporação, resultaram nas perdas por cocção. As perdas por descongelamento foram obtidas pela pesagem das amostras congeladas, após descongelamento por 16 horas à 4°C. As perdas totais foram obtidas pela diferença de peso entre amostras congeladas e após o cozimento.

Índice de fragmentação miofibrilar

O índice de fragmentação miofibrilar (IFM) foi determinado conforme descrito por Culler et al. (1978). Para isso, homogeneizou-se uma amostra e retirou-se 4 gramas livre de gordura e tecido conjuntivo. Estas amostras foram homogeneizadas em Ultra – turrax com haste de cisalhamento (Marconi – MA 102/E) em 40 mL de solução tampão de índice de fragmentação miofibrilar (TIFM) à 2°C (100 mM KCL, 20 mM de fosfato de potássio pH 7,0, 1 mM de EDTA, 1 mM MgCl₂, 1 mM NaN₃, pH 7,0) duas vezes durante 30 segundos por vez. Após a homogeneização, as amostras foram centrifugadas a 1000 x g por 15 minutos, a 2°C e o sobrenadante descartado. O pellet foi ressuspenso em 40 mL de TIFM com bastão de vidro e a amostra centrifugada novamente a 1000 x g por 15 minutos, a 2°C. Após a centrifugação, o sobrenadante foi novamente

descartado e o pellet ressuspenso em 10 mL de TIFM à 2°C e homogeneizado sob agitação vigorosa em vórtex, sendo o material foi filtrado em peneira de polietileno com malha de 1 mm. Foram adicionados novamente 10 mL de TIFM à 20°C para lavagem do tubo de centrífuga e para auxiliar na filtração. Realizou-se a quantificação de proteínas miofibrilares totais pelo método do macro biureto conforme descrito por Gornall et al. (1949). Para determinação de IFM as amostras foram preparadas com o TIFM para um volume final de 8 mL e concentração de proteína de 0,5mg/mL. As amostras foram homogeneizadas e submetidas à leitura de absorbância (540nm) e o valor de IFM obtido pelo cálculo:

$$\text{IFM} = \text{absorbância} \times 200$$

em que 200 = fator de escala para converter os valores de absorbância conforme sugerido por Culler et al. (1978)

Colágeno total e solúvel

O colágeno total (mg/g) e solúvel (% do total) foram quantificados pelo aminoácido hidroxiprolina a partir da metodologia proposta por Woessner Jr. (1961) e modificada no Laboratório de Bioquímica das Proteínas do Departamento de Química e Bioquímica do Instituto de Biociências Unesp –Botucatu, conforme descrito por Hadlich et al. (2006). A partir de uma amostra homogeneizada, retirou-se 5 gramas que foram colocadas em tubos plásticos com 20 mL de água destilada e submetidos a banho-maria por duas horas a 80°C. Após cozimento, as amostras foram homogeneizadas por um minuto em turrax e centrifugadas a 1000 g por 15 minutos em temperatura ambiente. Sobrenadante e sedimento foram separados em tubos de vidros, onde foram adicionados 30 mL e 50 mL de HCl 6N, respectivamente. As amostras foram levadas para estufa a 100 °C por 16 horas, para hidrólise. Em seguida, as amostras foram filtradas e diluídas em 1:10 e 1:25, respectivamente e tiveram o pH ajustado para 6,0 com solução de NaOH 2N. Após este procedimento, foram transferidos para tubos de ensaio 2,0 mL da fração sobrenadante e sedimento das amostras e 1 mL da solução oxidante (10 mL de solução Cloramina – T 7 %; 40 mL de Tampão Citrato). Após 20 minutos em temperatura ambiente, adicionou-se 1,0 mL de reagente de cor (5 g de 4-

dimetilaminobenzaldeído; 20 mL de propanol; 9mL de ácido perclórico 60%). As amostras foram mantidas em banho-maria por 15 minutos a 60°C. Após o resfriamento foi realizada a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 560 nm.

Os valores de colágeno total e solúvel foram calculados através das equações descritas abaixo:

$$\% \text{ Colágeno total} = \% \text{ Colágeno no sedimento} + \% \text{ Colágeno no sobrenadante}$$

$$\% \text{ Colágeno solúvel} = \frac{\% \text{ Colágeno no sobrenadante}}{\% \text{ Colágeno total}} \times 100$$

Fibras musculares

Após retiradas do ultrafreezer, as amostras foram transferidas para um criomicrotomo Leica® CM 1850TM (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany) onde foram fixadas com resina *Optimal Critical Temperature compound* – OCT Tissue-Tek® (Sakura, Finetek, Zoeterwoude, The Netherlands) em suportes metálicos do criostato.

Foram feitos cortes seriados de 12 µm, perpendiculares ao sentido das fibras. Após cortadas, as fibras foram coladas às lâminas, que estavam em temperatura ambiente. As lâminas foram previamente lavadas e embebidas em solução de gelatina e sulfato de cromo e potássio, passando uma noite em estufa a 37°C. As lâminas com os cortes foram colocadas em freezer a -20°C de onde foram retiradas e ajustadas à temperatura ambiente antes de serem coradas, baseando-se nas variações de sensibilidade para atividade de adenosina tri-fosfatase miofibrilar (m-ATPase) em exposição a diferentes valores de pH (adaptado de Stevens & Palmer, 1996). Sendo assim, a diferenciação das fibras musculares foi realizada associando dois procedimentos de reação histoquímica da m-ATPase. Após ajuste de temperatura, todos os cortes foram submetidos à pré-incubação em pH 9,4 para ativação da ATPase. Em seguida, metade dos cortes foram submetidos a incubação em pH 4,2 para separação das fibras de contração lenta das rápidas (I ≠ IIA+IIB) e incubação em pH 4,7 para distinção entre fibras glicolíticas e intermediárias (IIA ≠ IIB+I).

Comparando-se as duas lâminas, as fibras puderam ser classificadas em tipo I, IIA e IIB de acordo com a proposta de Brooke & Kaiser (1970). Após coloração, foram

capturadas 20 imagens de cada lâmina por meio de câmera Olympus® U-CMAD-2 (Olympus Corporation Tokyo Japan) que estava acoplada diretamente ao microscópio ótico de luz Olympus® BX-60™ (Olympus Corporation, Tokyo, Japan), com objetiva de 10X e auxílio do aplicativo Image-Pro® Plus v.4.5.0.29 (Media Cybernetics, Maryland, USA). A frequência relativa (%) e a área (μm^2) das fibras foram calculadas a partir de pontos localizados em espaços vazios na máscara de grade (*grid mask*), que possuía, no total, 65 pontos. Para cada animal foram utilizadas 15 imagens (as melhores dentro das 20 imagens capturadas).

Composição centesimal

Para a determinação da composição centesimal, as amostras foram liofilizadas até a obtenção de amostras livres de umidade e, em seguida, moídas em moinho de bola. As amostras moídas foram armazenadas, sob refrigeração, em recipiente plástico até o momento da realização das análises. A composição foi determinada de acordo com a metodologia sugerida pela AOAC (1990). O nitrogênio total foi obtido pelo método kjeldahl, sendo a proteína bruta o produto entre o teor de nitrogênio total e o fator de 5,88, conforme descrito por Baldwin (1995).

As amostras dos alimentos fornecidos, sobras, e fezes também foram analisadas para determinação dos teores de nutrientes seguindo as recomendações da AOAC (1990) para que fossem determinadas as quantidades de energia metabolizável consumidas pelos animais, de acordo com o proposto pelo NRC (2001).

Análises Estatísticas

Os dados foram analisados por intermédio da análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas através de contrastes ortogonais (linear e quadrático) para os níveis de inclusão de glicerina bruta. Todos os procedimentos foram realizados utilizando-se o procedimento PROC GLM SAS 9.0, por intermédio do programa *Statiscal Analysis System* (SAS, 2005), adotando-se 0,05 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quando se objetiva estudar o efeito da substituição de um alimento convencional, como o milho, por outra fonte de menor valor comercial na nutrição de bovinos de corte, a principal preocupação está calcada na possibilidade do novo ingrediente não atender da mesma forma os requerimentos nutricionais do animal.

Da mesma forma, o não atendimento destes requerimentos pode interferir de forma negativa na qualidade do produto final (carne). No entanto, a energia metabolizável disponível para os animais nos diferentes níveis de substituição do milho pela glicerina bruta não diferiu ($P > 0,05$) entre os tratamentos (Tabela 2), o que permitiria vislumbrar uma equivalência na qualidade da carne.

Tabela 2: Médias e erro-padrão da média para consumo de energia metabolizável

Ítems	Inclusão de glicerina rruta na dieta (%MS)					EPM	P-Valor	
							Linear	Quadrático
	0	5	10	15	20			
CEMet, Mcal.d ⁻¹	25,06	26,70	24,95	25,96	27,45	2,8710	0,2856	0,5808
Ins:Gli, µg.g ⁻¹	0,94	0,80	0,86	1,07	1,40	0,2146	0,0021	0,0093

(CEMet) e relação sérica de insulina:glicose (Ins:Gli), de acordo com os tratamentos experimentais

No entanto, o efeito de dietas diferentes capazes de fornecer, igualitariamente, as mesmas quantidades dos nutrientes dietéticos requeridos pelo animal, pode não se limitar à manutenção do desempenho produtivo. Existem variações na partição dos nutrientes entre diferentes alimentos ao longo do trato digestório que disponibilizam diferentes metabólitos, os quais serão utilizados pelos diferentes tecidos corporais.

E parece estar aí, a chave para o entendimento das diferenças existentes na qualidade da carne à medida que a glicerina foi incorporada na dieta dos animais. Conforme pode ser observado na Tabela 2, a relação entre insulina e glicose aumentou ($P < 0,05$) com a inclusão de glicerina na dieta.

O glicerol pode ser absorvido pelo epitélio ruminal, e levado pelo sangue até o fígado onde é convertido a glicerol-3-fosfato e posteriormente a gliceraldeído-3-fosfato, este último, um intermediário da lipogênese, via gliconeogênica ou glicolítica (Tao et al. 1983).

Os ruminantes dependem totalmente da gliconeogênese para manter concentrações plasmáticas de glicose (Etherton, 1982). Sendo assim, o aumento no aporte de glicerol que chega ao fígado promoveria o aumento na síntese hepática de glicose. De acordo com Ørskov (1986), o fígado de animais ruminantes apresenta grande capacidade de produzir glicose por intermédio de outros intermediários, no entanto este órgão não é eficiente utilizador de glicose exógena. Assim, mesmo pequeno suprimento de compostos gliconeogênicos estimularia a rápida produção de insulina. A insulina é o principal hormônio controlador da utilização da glicose pelos tecidos extra-hepáticos em ruminantes, como em outras espécies, apresentando nos primeiros ação mais ampla, com influência também no metabolismo de proteína e lipídeos (Weekes, 1991).

Smith e Crouse (1984) demonstraram que a glicose é responsável por 50 a 75% das unidades de acetil utilizadas para a lipogênese *in vitro*. Assim, existe a possibilidade de que o aumento da glicose no sangue poderia aumentar a deposição de gordura intramuscular.

Schoonmaker et al. (2003) verificaram que bezerros cujo nível sérico de insulina era mais elevado, tiveram a captação de glicose pelos tecidos periféricos aumentada e, conseqüentemente, aumento no marmoreio. Isso porque a atividade da enzima ATP-citrato liase (envolvida no processo de conversão de glicose a acetil-CoA e normalmente em baixas concentrações no tecido adiposo dos ruminantes) aumentou grandemente nos adipócitos intramusculares em resposta a melhora do plano nutricional (Schoonmaker et al., 2004).

No entanto, o teor de extrato etéreo (EE) no músculo não foi afetado ($P > 0,05$) pelos níveis de glicerina bruta na dieta (Tabela 3). Embora não esperado, este resultado parece ser atribuído à baixa sensibilidade à insulina dos adipócitos dos animais utilizados neste estudo. O tecido adiposo de bovinos cujo histórico de crescimento se deu em pastagem, adquire resistência a esse hormônio (Rhoades et al., 2007).

Os animais deste estudo foram recriados extensivamente em pastagem até o início do experimento, deste modo, poderiam ter desenvolvido a referida resistência.

Adicionalmente, Schoonmaker et al., 2004 reportaram que a atividade da enzima glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PD) no depósito de gordura intramuscular foi menor para animais previamente alimentados com forragem (dietas de baixa energia) na fase de crescimento em comparação aos alimentados com dietas de alto concentrado, mesmo que ambos tenham sido realimentados com dietas de alto

Ítems	Inclusão de glicerina bruta na dieta (%MS)					EPM	P-Valor	
	0	5	10	15	20		Linear	Quadrático
Água, %	79,43	79,47	77,59	77,54	77,12	1,1301	0,0135	0,6475
Proteína, %	18,74	17,70	19,24	19,10	19,46	1,1822	0,3650	0,6525
Extrato etéreo, %	1,96	1,79	2,54	1,81	2,53	0,6664	0,3386	0,7730
Cinzas, %	1,07	1,38	1,09	1,56	0,92	0,5012	0,8954	0,1945

concentrado durante a fase posterior de terminação, durante 189 dias.

Tabela 3: Composição centesimal do músculo *Longissimus dorsi*, de acordo com os tratamentos experimentais

A G6PD é responsável pela regeneração do NADPH no ciclo das pentoses. O NADPH é fundamental na síntese de ácidos graxos, atuando como agente redutor. A redução da atividade da G6PD implica em redução da lipogênese nos adipócitos.

Além da ausência de efeito da glicerina bruta sobre o grau de marmorização, representado pelo teor de extrato etéreo presente no músculo *Longissimus dorsi*, as médias obtidas neste trabalho ($2,16 \pm 0,65$ %) apresentaram-se muito abaixo do valor sugerido para proporcionar maior sabor e suculência à carne, que, segundo Cervieri et al. (2001) deveria ser próximo à 4%.

Isso pode ter ocorrido porque além do comentado acima, a deposição de gordura obedece a uma ordem cronológica, onde a gordura peri-renal é a primeira a ser depositada, seguida pela gordura intermuscular, pela gordura subcutânea e finalmente pela gordura intramuscular (Sainz & Hasting, 2000). Quando os animais atingem a fase de terminação, os depósitos de gordura que se desenvolveram mais precocemente (intermuscular, peri-renal e mesentérico) já completaram seu desenvolvimento hiperplásico e passam a depositar gordura nos adipócitos existentes, enquanto que os depósitos subcutâneo e intramuscular continuam a ser constituídos por novos adipócitos, ao mesmo tempo em que estes são preenchidos com gordura (Sainz & Hasting, 2000). Talvez o tempo de confinamento não tenha sido suficiente para os animais começarem a hiperplasia e/ou hipertrofia dos adipócitos intramusculares.

Outra questão a ser considerada, é que comparando bovinos de classes sexuais diferentes e abatidos com a mesma idade, os inteiros apresentam carne com menos gordura, enquanto a castração pode melhorar a qualidade da carne, em virtude do maior teor de gordura intramuscular (Sainz, 1996). Neste estudo foram utilizados animais não-castrados, o que poderia ter retardado ainda mais a proliferação das células adiposas, devido aos hormônios andrógenos que interferem na partição da energia ingerida em favor da síntese protéica.

Os teores de proteína e cinzas no músculo também não foram afetados ($P > 0,05$) pelo nível de inclusão de glicerina (Tabela 3). No entanto foi verificada redução ($P < 0,05$) da umidade à medida que a glicerina foi incorporada a dieta. Tal redução poderia estar atribuída a aparente tendência de incremento nos teores de EE e proteína que, mesmo que não tenham sido significativos, quando somadas promoveu referida redução, proporcionalmente.

A composição centesimal do *Longissimus dorsi*, de maneira geral, não sofreu interferência dos níveis de glicerina. Segundo Geay et al. (2001) exceto pelos teores de EE, a composição dos músculos é pouco variável,. As médias, de acordo com esses autores, seriam cerca de 75% de água, 19-25% de proteína e 1-2% de cinzas. Os valores obtidos nesse estudos foram condizentes com os valores propostos (Tabela 3).

Em geral, a variação no nível de energia da dieta tem se mostrado influente no que diz respeito à composição do tipo de fibra muscular (Solomon e Lynch, 1988). Além disso, características musculares, em particular a proporção dos diferentes tipos de fibra, contribuem em alterações da qualidade da carne (Lefaucheur e Gerrard, 2000).

As fibras podem ser classificadas, de forma geral, em três tipos, de acordo com sua velocidade de contração (m-ATPase). Fibras do tipo I apresentam metabolismo aeróbico (oxidativo), elevado número de mitocôndrias, ampla vascularização e elevado teor de mioglobina, conferindo-lhes a cor vermelha, utilizam preferencialmente ácidos graxos como fonte de energia e são muito resistentes à fadiga devido ao armazenamento de oxigênio pela mioglobina. Fibras IIA apresentam metabolismo oxidativo glicolítico, possuem número intermediário de mitocôndrias e densidade capilar, bem como elevado teor de mioglobina, tendo a coloração rosada, fatigável. Enquanto fibras IIB apresentam metabolismo anaeróbico (glicolítico) e velocidade de contração rápida com força intensa; possuem poucas mitocôndrias, reduzida vascularização e baixo teor de mioglobina, conferindo-lhes a coloração vermelha pouco intensa, sendo consideradas brancas; utiliza preferencialmente o glicogênio como substrato energético e são facilmente fatigáveis devido ao acúmulo de ácido láctico (Banks, 1992).

Conforme tratado anteriormente, o aporte de energia metabolizável disponível pelas diferentes dietas (Tabela 2) não variou. Talvez por esse motivo não foi observada ($P > 0,05$) variação na proporção de fibras musculares com a inclusão de glicerina bruta na dieta (Tabela 4).

Moody et al. (1980) observaram que a energia disponível em dietas para cordeiros parece ter provocado mudanças fisiológicas entre fibras IIA e IIB. Animais alimentados com menor nível de energia apresentaram maior proporção de fibras IIA em relação às fibras IIB. Isso parece estar relacionado à necessidade de melhoria da eficiência de utilização de energia por parte do músculo.

Tabela 4: Proporção de fibras musculares no músculo *Longissimus dorsi* de animais em função dos diferentes níveis de inclusão de glicerina bruta em substituição ao milho

Ítems	Inclusão de glicerina bruta na dieta (%MS)					EPM	P-Valor	
							Linear	Quadrático
	0	5	10	15	20			
Proporção das fibras musculares, %								
I	31.35	30.53	31.64	30.76	29.80	2.1086	0.3633	0.4977
IIA	25.95	27.25	26.15	26.80	26.06	3.0543	0.9398	0.6526
IIB	42.70	42.22	42.21	42.44	44.14	3.0397	0.4789	0.3587
Área de seção transversal das fibras musculares, μm^2								
I	1746.4	1695.6	1650.2	1954.1	2073.3	212.0193	0.0043	0.0521
IIA	2417.6	2232.9	2291.7	2527.3	2654.0	189.0193	0.0056	0.0144
IIB	3388.0	3040.2	3068.9	3121.1	3121.9	353.1977	0.4011	0.2192

O *Longissimus dorsi* é um músculo de sustentação, considerado branco (Ashmore et al., 1972) , sendo esperado, portanto, que possuisse maior proporção de fibras IIB. A média para fibras tipo I foi $30,83 \pm 2,08\%$, tipo IIA $26,47 \pm 2,95\%$ e tipo IIB $42,70 \pm 3,01\%$. Conforme pode ser visto na Tabela 4, estão de acordo com esses autores.

Contrariamente à ausência de efeito sobre a proporção das fibras, a área da seção transversal das fibras foi afetada ($P < 0,05$) pelos níveis de glicerina (Tabela 4). O diâmetro das fibras tipo I e IIA aumentou à medida que a glicerina foi substituindo o milho na dieta.

Esse resultado parece estar relacionado com a capacidade gliconeogênica do glicerol. À medida que mais glicerol chegou ao fígado e converteu-se em glicose, mais aminoácidos foram poupados para gliconeogênese, chegando ao tecido muscular. Considerando que fibras do tipo I e IIA são contempladas por maior vascularização (Vestergaard et al., 2000) e aliada a uma menor proporção (individual) das mesmas, um aumento na quantidade de aminoácidos no sangue poderia aumentar a

incorporação dos mesmos por estes tipos de fibras, contribuindo para que ocorresse a referida hipertrofia.

A área de seção transversal das fibras I, IIA e IIB respeita essa ordem, conforme (Peter et al., 1972), o que foi verificado neste estudo (Tabela 4). Nesse contexto, a mesma variação, seria proporcionalmente mais significativa nas fibras de menor área de seção transversal (I e IIA) o que poderia, além de outros fatores, ter contribuído para obtenção de variação na área de seção transversal destas fibras.

Oliván et al. (2004) demonstraram que a hipertrofia muscular afeta significativamente o peso da carcaça e aumenta o rendimento de carcaça. Assim, havia expectativa que aumento no peso final das carcaças acompanhasse o aumento na área de seção transversal das fibras musculares com a inclusão de glicerina nas dietas dos animais. Porém, não foi verificado aumento ($P > 0,05$) no peso final das carcaças entre os tratamentos (Tabela 5).

O crescimento muscular dos bovinos resulta do número total de fibras ao nascimento, da modulação das fibras seguindo essa relação $I \Leftrightarrow I/IIA \Leftrightarrow IIA \Leftrightarrow IIA/IIB \Leftrightarrow IIB$ e da hipertrofia de todos tipos de fibra após nascimento (Wegner et al, 2000). No entanto, além da ausência de efeito na proporção de fibras (modulação) e, provavelmente, a menor frequência de fibras do tipo I e IIA associada a menor área da seção transversal, característica desses tipos de fibra, não foram capazes de elevar de maneira significativa o peso final das carcaças.

Além de modificações quanto à composição (química ou tipo de fibra) da carne, características de qualidade, mais acessíveis ao consumidor, como cor, maciez e perdas de água também são passíveis de serem influenciadas pela dieta a qual o animal foi submetido *ante mortem*.

Abrahão et al. (2005) relataram que a alimentação afeta de forma direta e indireta a qualidade final do produto. Parece que os fatores diretos estão relacionados com características quantitativas e os indiretos com os atributos qualitativos

A quebra por resfriamento, calculada pela relação entre o peso de carcaça quente e carcaça fria, antes e após o resfriamento, não foi influenciada ($P > 0,05$) pelos níveis de glicerina bruta na dieta (Tabela 5). De acordo com Müller (1987), menores índices de quebra são verificados em carcaças com maior grau de acabamento, uma

vez que a espessura de gordura funciona como isolante, evitando perdas por desidratação. Assim, a ausência de diferenças para quebra ao resfriamento pode ser atribuída ao fato de que as diferentes dietas conferiram às carcaças o mesmo grau de acabamento.

Tabela 5: Médias e erro padrão da média para pH inicial (pHi) e final (pHf) da carcaça, peso de carcaça quente (PCQ), peso de carcaça fria (PCF), quebra por resfriamento (QRES), de acordo com os tratamentos experimentais

Ítems	Inclusão de glicerina bruta na dieta (%MS)					EPM	P-Valor	
	0	5	10	15	20		Linear	Quadrático
PCQ, kg	306,53	313,20	293,12	307,64	319,97	21,0935	0,4405	0,1657
PCF, kg	300,23	305,44	286,33	301,28	313,01	21,1239	0,4394	0,1561
QRES, %	2,06	2,50	2,33	2,08	2,18	0,6256	0,8237	0,4304
pHi	7.06	7.25	7.07	7.05	7.08	0.2653	0.6510	0.6841
pHf	5.72	5.66	5.81	5.73	5.70	0.2235	0.8547	0.6293

O entendimento da sequência de eventos bioquímicos, no músculo *post mortem*, é o centro que designa práticas que otimizam a qualidade da carne. O processo de conversão do músculo em carne é marcado por degradações enzimáticas e desnaturação protéica que tornará a carcaça menos rígida.

Após o abate, o fornecimento de oxigênio cessa e inicia-se o metabolismo anaeróbico. A taxa glicolítica é determinada pela relação entre disponibilidade de ATP e glicogênio muscular (determinado pela dieta); sendo a taxa de conversão do glicogênio a ácido láctico e acúmulo deste no músculo *post mortem* responsáveis pela queda do pH.

A importância da queda do pH reside no fato de que algumas enzimas proteolíticas são proteases que atuam em pH mais ácido (pH<6,0; Koomamaraie, 1995). Abularach et al. (1998) sugerem que o pH final, após estabelecimento do *rigor mortis* esteja em torno de 5,4 a 5,8. Contudo, as dietas não influenciaram ($P > 0,05$) as

médias finais e iniciais de pH (Tabela 5), mas os resultados indicaram que as dietas proporcionaram níveis adequados de glicogênio, o que permitiu valores ideais de pH final ($5,72 \pm 0,22$).

A não adequação do pH final da carcaça representa grandes prejuízos para indústria frigorífica, uma vez que a carne com valores elevados de pH final ($> 5,8$), apresenta coloração escura e, conseqüentemente, menor tempo de prateleira. Segundo Gill & Newton (1981), este fato é resultado da ausência de ácido láctico e glicose livre, o que favorece a proliferação bacteriana responsável pela coloração esverdeada da carne e a produção de odores desagradáveis. Além disso, vários trabalhos têm demonstrado que a carne se torna mais dura à medida que o pH se eleva de 5,5 a 6,0 (Purchas et al., 1999; Wulf et al., 2002), sendo a maior frequência de problemas relacionados à dureza da carne, relacionados com pH final do músculo próximo de 5,8 a 6,0 (Wulf et al., 2002).

Bianchini (2005) sugere uma faixa ótima de pH em animais recém abatidos de 6,9 a 7,2; desta forma os resultados deste trabalho apresentam-se adequados ($7,10 \pm 0,26$).

Segundo Koohmaraie (1992), as diferenças na maciez da carne são determinadas em 85% devido às alterações *post mortem* e 15% devido a diferenças *ante mortem*. Os principais fatores *ante mortem* seriam: genética, maturidade, acabamento, taxa de crescimento, relação colágeno insolúvel: solúvel, etc. Enquanto fatores *post mortem* seriam relacionados ao pH, atividade proteolítica e tempo de maturação. Neste sentido, a glicerina bruta, em todos os níveis, permitiu igual fornecimento de glicogênio para queda adequada de pH, bem como similares pesos e quebra pelo resfriamento das carcaças (Tabela 5), também contribuiria de forma similar no que diz respeito à maciez da carne, o que de fato aconteceu (Tabela 6).

Não houve efeito do nível de glicerina bruta ($P > 0,05$) sobre a força de cisalhamento (FC) e sobre o índice de fragmentação miofibrilar (IFM) da carne (Tabela 6). Provavelmente porque a atuação das proteases musculares pH-dependentes encontraram as mesmas oportunidades de atuação independente do tratamento.

Tabela 6: Médias e erro-padrão da média para força de cisalhamento (FC), índice de fragmentação miofibrilar (IFM), colágeno total (CT) e colágeno solúvel (CS) da carne dos animais, de acordo com os níveis de inclusão da glicerina bruta na dieta

Ítems	Inclusão de glicerina bruta na dieta (%MS)					EPM	P-Valor	
	0	5	10	15	20		Linear	Quadrático
FC, kgf	2,97	2,89	3,17	2,93	2,96	0,7078	0,9938	0,7786
IMF, %	61,87	50,97	62,08	56,02	58,22	8,0051	0,8293	0,4472
CT, mg.g ⁻¹	5,75	6,06	5,87	5,40	5,78	0,4891	0,3478	0,8493
CS, %	29,19	27,76	28,42	29,71	29,04	1,9296	0,5159	0,4693

Segundo Hopkins et al. (2000), o IFM reflete a intensidade da proteólise das miofibrilas e pode prever mais de 50% da variação na maciez da carne, mostrando-se altamente correlacionado com índices de maciez tais como a FC. O IFM apresenta uma relação inversa com a FC, pois à medida que se aumenta a fragmentação miofibrilar, diminuem-se a força necessária para cisalhamento das fibras musculares (Koohmaraie, 1990).

A média para FC foi de $2,99 \pm 0,68$ kgf, estando abaixo do limite máximo de 4,5 kgf para que a carne seja caracterizada como macia (Shackelford, 1991). Culler (1978) propõe que valores de IFM acima de 60% caracterizam carne muito macia, valores entre 60 e 50% maciez moderada e valores abaixo de 50% como carne dura. Nesse estudo, a carne dos animais apresentou valor médio para IFM igual a $56,13 \pm 7,39\%$, sendo, portanto, classificada como carne de elevada a moderada maciez. Esses valores confirmam o fato de que além de não comprometer a maciez da carne, é possível produzir carne macia utilizando-se co-produtos na alimentação de bovinos em terminação.

Outro fator que pode interferir na maciez é o teor de colágeno e, principalmente a relação colágeno solúvel:insolúvel. Segundo Bailey (1972), a proporção de colágeno solúvel, recém-sintetizado, apresenta-se como fator determinante na maciez da carne. Isso se deve ao fato de que as ligações cruzadas intermoleculares presentes no

colágeno recém-sintetizado são instáveis ao calor, dissolvendo-se durante o cozimento da carne.

Maiores taxas de crescimento, conseguidas com o uso de dietas de alta energia, conforme foi alcançado e independente do nível de inclusão de glicerina bruta, determinam a maior relação colágeno solúvel:insolúvel (Bosselmann et al., 1995), que promoverá animais abatidos mais jovens e carne mais macia. Crouse (1986) afirmou que a intensidade de ganho de peso tem influência na maciez da carne, pois animais que atingem mais rápido o máximo de crescimento muscular possuem maior proporção de colágeno solúvel.

Não houve efeito dos níveis de glicerina ($P > 0,05$) na quantidade de colágeno total e solúvel do músculo *Longissimus dorsi* (Tabela 5). Burson et al. (1986), trabalhando com machos inteiros, encontraram, respectivamente, $5,34 \text{ mg.g}^{-1}$ e $13,90\%$ de colágeno total e solúvel no *Longissimus dorsi* de seus animais. O resultado para colágeno total encontrado neste estudo não diferiu muito desses autores ($5,77 \pm 0,48 \text{ mg.g}^{-1}$), porém a solubilidade do colágeno foi bastante superior ($28,82 \pm 1,90\%$).

Vale ressaltar que Koohmaraie (1992) atribui apenas 15% da variabilidade na maciez da carne bovina às diferenças em marmoreio e colágeno, e a maior parte dos 85% restantes às variações nas alterações *post mortem*, ou seja, no processo enzimático que leva ao amaciamento da carne, conhecido como maturação. Nesse sentido, a maciez da carne além de pouco afetada pelo teor de colágeno, teve a interferência diminuída pela alta solubilidade do colágeno na carne.

O suco exsudado da carne na hora de compra pelo consumidor é um atributo qualitativo bastante relevante na decisão de compra ou não do produto. A capacidade de retenção de água define-se como a capacidade da carne reter sua água durante a aplicação de forças externas, tais como, cortes, aquecimento, trituração e prensagem (Flores & Bermell, 1984). A perda de líquido durante o processamento da carne está relacionada com redução na suculência e alterações na coloração.

Conforme pode ser observado na Tabela 7, os níveis de inclusão de glicerina bruta não influenciaram ($P > 0,05$) nenhum tipo de perda: descongelamento, gotejamento, evaporação, cocção e perdas totais.

Tabela 7: Médias e erro-padrão da média para perdas por descongelamento (PDESC), perdas por gotejamento (PGOT), perdas por evaporação (PEVAP), perdas por cocção (PCOC) e perdas totais (PTOTAIS) da carne dos animais, de acordo com os níveis de inclusão de glicerina bruta na dieta

Ítems	Inclusão de glicerina bruta na dieta (%MS)					EPM	P-Valor	
	0	5	10	15	20		Linear	Quadrático
PDESC, %	9,56	5,17	7,83	8,53	8,40	2,8479	0,1332	0,1437
PGOT, %	3,32	6,09	4,35	6,19	4,29	2,6085	0,6061	0,1536
PEVAP, %	17,85	11,26	20,02	17,06	17,76	11,2498	0,1138	0,0687
PCOC, %	21,17	17,35	24,36	23,25	22,00	5,1950	0,5345	0,7090
PTOTAIS, %	28,41	20,66	30,20	28,75	29,16	5,7355	0,4756	0,4613

A queda do pH *post mortem* está relacionada com redução na capacidade de retenção de água da carne, uma vez que a acidez causa desnaturação e perda da solubilidade das proteínas musculares, ou seja, o número de cargas negativas. Consequentemente, estes grupos não têm capacidade de atrair água, pois somente os grupos hidrofílicos carregados possuem esta capacidade (Roça, 2009). Conforme previamente apresentado na Tabela 5, o pH final das carcaças não diferiu entre tratamentos, o que explicaria a ausência de efeito da glicerina sobre as perdas totais da carne.

A primeira vista, seria esperado que com a inclusão de glicerina bruta nas dietas pudesse ocorrer redução na perda de exsudado pela carne, uma vez que o glicerol tem sido usado por atletas para evitar a desidratação, favorecendo a retenção da água no interior das células (Freund et al., 1995).

Essa hipótese foi confirmada por Parker et al. (2007), que avaliou o efeito do glicerol no controle da desidratação durante o transporte de bovinos. Estes autores concluíram que o glicerol se mostrou eficaz, o que levaria mais uma vez a expectativa da glicerina reduzir as perdas de exsudado na carne. Porém esses autores observaram

que esse efeito do glicerol só se deu nas primeiras 24 horas, sob jejum de água e alimento e cuja dosagem de glicerol seria de 2 g.kg^{-1} de peso corporal.

Neste estudo, os animais passaram por um jejum de alimento 16 a 18 horas antes do abate e acesso livre a água. Além disso, apenas os tratamentos com maiores níveis de inclusão de glicerina (15 e 20%) permitiria a ingestão da dose de glicerol utilizada por esses autores, porém parte do glicerol seria fermentado no rúmen, reduzindo o aporte de glicerol que chegaria a corrente sanguínea para ser levado aos tecidos e que atuaria retendo líquidos.

Além da capacidade de retenção de água, a coloração do músculo também sofre ação direta do pH final da carcaça. Isso pode ocorrer de duas formas: quando a produção de ácido láctico é muito rápida, em decorrência de um stress agudo imediatamente antes do abate, com alta disponibilidade de glicogênio no músculo. Neste caso, a dispersão de luz pode dobrar, provocando palidez, característica da carne PSE (pálida, mole e exsudativa). O segundo caso advém da situação em que o animal chega ao abate após um período de estresse prolongado, a queda de pH é incompleta, pois não há glicogênio no músculo, e a carne permanece translúcida, como ocorre com a carne bovina “dark cutting” (MacDougall, 1994). Lawrie (2005) relatou que se o pH final da carne for alto, as proteínas musculares se encontrarão acima do seu ponto isoelétrico aumentando assim a associação da água do músculo a essas, fazendo com que as fibras se tornem fortemente ligadas entre si, apresentando-se como barreira à difusão. Consequentemente, a camada de oximioglobina vermelho brilhante se torna pequena, havendo predomínio da cor vermelho púrpura da mioglobina em magnitude tal que a carne aparecerá escura (Lawrie, 2005). Nesse contexto, a ausência de diferenças ($P > 0,05$, Tabela 8) na faixa L^* entre os níveis de inclusão de glicerina pode ter ocorrido em função da não observação de diferenças quanto ao pH final da carcaça (Tabela 5).

Tabela 8: Médias e erro-padrão da média das variáveis da avaliação instrumental de cor da carne dos animais, de acordo com os níveis de inclusão de glicerina bruta na dieta

Ítems	Inclusão de glicerina bruta na dieta (%MS)					EPM	P-Valor	
							Linear	Quadrático
	0	5	10	15	20			
L*	38.92	38.17	39.66	38.94	39.45	2.2875	0.7046	0.9131
a*	16.46	17.09	16.66	16.92	18.16	1.5091	0.1072	0.4158
b*	8.91	8.84	9.64	9.01	10.10	1.2433	0.1247	0.6450

Os teores de vermelho, mensurado através da coordenada de cromaticidade a^* , refletem a quantidade de pigmentos vermelhos das mioglobinas (Hedrick et al, 1983). Os níveis de glicerina bruta poderiam ter afetado esta variável de forma indireta, através da alteração na proporção das fibras musculares, porém isto não ocorreu (Tabela 4). Como já mencionado anteriormente, fibras tipo I têm maior teor de mioglobina que fibras tipo IIB. Já a coordenada b^* está relacionada ao teor de amarelo decorrente de carotenóides depositados em células adiposas e musculares (Priolo, et al., 2001).

Muchenjea et al. (2009) propuseram faixas de variação de 33,2 a 41,0; 11,1 a 23,6; e 6,1 a 11,3, respectivamente, para L^* , a^* e b^* . Os valores encontrados nesse trabalho estão em acordo com esses autores.

CONCLUSÃO

A inclusão de glicerina bruta em até 20% da matéria seca pode ser usada em dietas de terminação de bovinos de corte, pois não promove efeito deletério aos principais parâmetros químicos e físicos que determinam características qualitativas de carne. Dietas com até 20% de inclusão de glicerina bruta, permitem ao pecuarista produzir carnes que atendem as exigências de qualidade de frigoríficos e consumidores.

LITERATURA CITADA

- Abrahão, J.J.S., Prado, I.N., Perotto, D., Moletta, J.L., 1998.** Características de carcaça e da carne de tourinhos submetidos a dietas com diferentes níveis de substituição do milho por resíduo úmido da extração da fécula de mandioca. *Rev. Bras. Zootec.* **34**: 205-210.
- Abularach, M.L., Rocha, C.E., Felício, P.E. 1998.** Características de qualidade do contrafilé (m. L. dorsi) de touros jovens da raça Nelore. *Ciência e Tecnologia de Alimentos.* **18**: 205-210.
- Association of Official Analytical Chemisty (AOAC). 1990.** Official Methods of Analysis, 15th ed. AOAC International, Arlington, VA.
- Bailey, A.J. 1972.** The basis of meat texture. *J. Sci. Food Agric.* **23**: 995-1007.
- Baldwin, R.L. 1995.** Modeling ruminant digestion and metabolism. London: Chapman and Hall. 592p.
- Bianchini, W. 2005.** Crescimento muscular e qualidade de carne de bovinos Nelore, Simental, e seus mestiços no sistema de produção de superprecoce. Jaboticabal, 2005. Faculdade e Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade do estado de São Paulo, Botucatu.
- Bosselmann, A., C. Moller, H. Steinhart, M., et al. 1995.** Pyridinoline cross-links in bovine muscle collagen. *J. Food Sci.* **60**: 953.
- Brooke, M.H., Kaiser, K.K. 1970.** Three 'myosin adenosine triphosphatase' systems: the nature of their pH lability and sulphydryl dependence. *J. Histochemist. Cytochemist.* **18**: 670-672.
- Burson, D.E., Hunt, M.C., Unruh, J.A., et al. 1986.** Proportion of types I and III collagen in Longissimus collagen from bulls and steers. *J. Anim. Sci.*, **63**(2): 453-456.
- Cervieri, R.C.; Arrigoni, M.B.; Oliveira, H.N. et al. 2001.** Desempenho e características de carcaça de bezerros confinados recebendo dietas com diferentes degradabilidade da fração protéica. *Rev. Bras. Zootec.* **30**: 1590-1599.

- Cross, H.R., Carpenter, Z.L., Smith, G.C. 1973.** Effects of intramuscular collagen and elastin on bovine muscle tenderness. *J. Food Sci.* **38**: 998-1003.
- Crouse, J.D., Dikeman, M.E. 1976.** Determinates of retail product of carcass beef. *J. Anim. Sci.* **42**: 584-591.
- Culler, R.D. et al. 1978.** Relationship of myofibril fragmentation index to certain chemical physical and sensory characteristics of bovine *Longissimus* muscle. *J. Food Sci.* **43**: 1177-1180.
- Donkin, S.S. 2008.** Glycerol form biodiesel production: the new corn for dairy cattle. *Rev. Bras. Zootec.* **37**: 280-286.
- Drouillard, J.S. 2008.** Glycerin as a feed for ruminants: using glycerin in high-concentrate diets. *J. Anim. Sci.* **86**, E-Suppl.2, 392.
- Etherton, T.D. 1982.** The role of insulin-receptor interactions in regulation of nutrient utilization by skeletal muscle and adipose tissue: A review. *J. Anim. Sci.* **54**(1): 58-67.
- Evans, H.L.; Wiegand, B.R.; Kerley, M.S. et al. 2008.** Characterization of meat quality and lipid profile from steers fed crude glycerol. *J. Anim. Sci.* **86**, E-Suppl. 2, 40.
- Flores, J., Bermell, S. 1984.** Propriedades funcionales de las proteínas miofibrilares: capacidad de retención de água. *Revista Agroquímica de tecnologia de Alimentos.* **24**: 151-158.
- Freund, B.J.; Montain, S.J.; Young, A.J. 1995.** Glycerol hyperhydration: hormonal, renal and vascular fluid responses. *J. Appl. Physiol.* **79**: 2069-2077.
- Geay, Y.; et al. 2001.** Effect of nutritional factors on biochemical, structural and metabolic characteristics of muscles in ruminants, consequences on dietetic value and sensorial qualities of meat. *Reproduction Nutrition Development, Paris*, **41**: 1-26.
- Gill, C.O., Newton, K.G. 1981.** Microbiology of DFD beef. – Pages 305-327, *in* D.E. Hood and P.V Tarrant, eds. *The problem of dark cutting in beef*, Martinus Nijhoff.
- Gornall, A.G., Bardawill, C.L., David, M.M. 1949.** Determination of serum protein by means of the biuret reaction. *J. Biolog. Chemist.* **177**: 751-766.

- Hadlich, J.C.; Morales, D.C.; Silveira, A.C. et al. 2006.** Efeito do colágeno na maciez da carne de bovinos de distintos grupos genéticos. *Acta Scientiarum Animal Sciences*. **28** .57-62.
- Hendrick, H.B. et al. 1983.** Carcass and palatability characteristics of beef produced on pasture, corn silage and corn grain. *J. Anim. Sci.* .57:791-801.
- Hopkins, D. L.; Littlefield, P. J.; Thompson, J. M. 2000.** A research note on factors affecting the determination of myofibrillar fragmentation. *Meat Sci.* **56**: 19-22.
- Koomaraie, M. 1990.** Inhibition of postmortem tenderization in ovine carcasses through infusion of zinc. *J. Animal Science*, v.68, n.5, p.1476-83.
- Koohmaraie, M. 1992.** Role of the neutral proteinases in postmortem muscle protein degradation and meat tenderness. Pages 63-71, *in* Reciprocal Meat Conference, 45, 1992, Knoxville. Proceedings... Knoxville: American Meat Science Association...
- Koohmaraie, M. 1995.** The biological basis of meat tenderness and potential genetic approaches for its control and prediction. *Proceedings of the Reciprocal Meat Conference*. **4**: 69–75.
- Lawrie, R.A. 2005.** Ciência da carne. Pages 384. Trad. Jane Maria Rubensam. 6.ed. Porto Alegre: Artmed.
- Lefaucheur, L e Gerrard, D. 2000.** Muscle fiber plasticity in farm mammals. *J. Anim. Sci.* **77** :1-19.
- Macdougall, D.B. 1994.** Colour of meat. pages 79-93, *in* Pearson, A.M., Dutson, T.R. Eds. *Quality Attributes and their Measurement in Meat, Poultry and Fish Products*, Advances in meat research.
- Mach, N.; Bach, A.; Devant, M. 2008.** Effects of glycerin supplementation on performance and meat quality of young Holstein bulls fed high-concentrate diets. *J. Anim. Sci.* **86**, E-Suppl.2, 479.
- Muchenjea, V. et al. 2009.** Some biochemical aspects pertaining to beef eating quality and consumer health: a review. *Food Chemistry*. **112**: 279-289.
- Müller, L. 1987.** Normas para avaliação de carcaças e concurso de carcaças de novilhos. Pages 31, 2 ed. Santa Maria:UFSM.
- National Research Council - NRC. 2001.** Pages 381, *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7. ed. National Academy Press. Washington, DC.

- Oliván, M., Martínez, A.; Osoro, K., et al. 2004.** Effect of muscular hypertrophy on physico-chemical, biochemical and texture traits of meat from yearling bulls. *Meat Sci.* **68**: 567-575.
- Ørskov, E.R. 1986.** Starch digestion and utilization in ruminants. *J. Anim. Sci.* **63**(5): 1624-1633.
- Parker, A.J., Dobson, G.P., Fitzpatrick, L.A. 2007.** Physiological and metabolic effects of prophylactic treatment with the osmolytes glycerol and betaine on *Bos indicus* steers during long duration transportation. *J. Anim. Sci.* **85**: 2916-2923.
- Peter, J.B.; Barnard, R.J.; Edgerton, V.R. 1972.** Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle. Guinea pig and rabbits. *Biochemistry.* **11**: 2672-2633.
- Priolo, A.; Micol, D.; Agabriel, J. 2001.** Effect of grass feeding systems on ruminant meat color and flavor: a review. *Animal Research.* **50**: 185-200.
- Purchas, R.W.; Yan, X.; Hartley, D.G. 1999.** The influence of a period of ageing on the relationship between ultimate pH and shear values of beef m. longissimus thoracis. *Meat Sci.* **51**: 135-141.
- Rhoades, R.D.; Sawyer, J.E.; Chung, K.Y. et al. 2007.** Effect of dietary energy source on in vitro substrate utilization and insulin sensitivity of muscle and adipose tissues of Angus and Wagyu steers. *J. Anim. Sci.* **85**: 1719-1726.
- Roça, R.O. (2009).** Propriedades da carne. Available: <http://dgta.fca.unesp.br/docentes/roca/carnes/Roca105.pdf>. [2012 Jul. 29].
- Sainz, R.D. 1996.** Qualidade das carcaças e da carne bovina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DAS RAÇAS ZEBUÍNAS, 2., Uberaba MG
- Sainz, R.D.; Hasting, E. 2000.** Simulation of the development of adipose tissue in beef cattle. Pages 175-182, *in* McNamara, J.P.; France, J.; Beever, D.E. Eds. Modeling nutrient utilization in farm animals. 1.ed. New York.
- SAS Institute. 2005.** SAS system for windows: versão 9.0. Cary: SAS Institute.
- Schoonmaker, J. P., M. J. Cecava, D. B. Faulkner, F. L. Fluharty, H. N. Zerby, and S. C. Loerch. 2003.** Effects of source of energy and rate of growth on performance, carcass characteristics, ruminal fermentation, and serum glucose and insulin of early-weaned steers. *J. Anim. Sci.* **81**: 843–855.

- Schoonmaker, J.P.; Fluharty, F.L.; Loerch, S.C. 2004.** Effect of source and amount of energy and rate of growth in the growing phase on adipocyte cellularity and lipogenic enzyme activity in the intramuscular and subcutaneous fat depots of Holstein steers. *J. Anim. Sci.* **82**: 137-148.
- Shackelford, S. D.; Koohmaraie, M.; Miller, M.F. et al. 1991.** An evaluation of tenderness of the longissimus muscle of Angus by Hereford versus Brahman crossbred heifers. *Journal of Animal Science*, v.69, n.1, p.171-177.
- Smith, S. B., and J. D. Crouse. 1984.** Relative contributions of acetate, lactate, and glucose to lipogenesis in bovine intramuscular and subcutaneous adipose tissue. *J. Nutr.* **114** :792–800.
- Smith, S.B.; Kawachi, H.; Choi, C.B. et al. 2008.** Cellular regulation of intramuscular adipose tissue deposition and composition. *J. Anim. Sci.* **86**, E-Suppl.2, p.124.
- Solomon, M. B., R. G. Campbell, N. C. Steele, T. J. Caperna, and J. P. McMurtry. 1988.** Effect of feed intake and exogenous porcine somatotropin on longissimus muscle fiber characteristics characteristics of pigs weighing 55 kilograms live weight. *J. Anim. Sci.* **66**: 3279-3284.
- Tao, R.C.; et al. 1983.** Glycerol: its metabolism and use as an intravenous energy source. *Journal Parental Enternal Nutrition* **7**: 479-488.
- Valadares Filho, S.C.; M. I. Marcondes, M.L. Chizzotti and P.V.R. Paulino. 2010.** Pages 193. Exigências nutricionais de puros e cruzados. BR-CORTE. 2.ed. – Viçosa : UFV.
- Verseemann, B.A.; Wiegand, B.R.; Kerley, M.S. et al. 2008.** Dietary inclusion of crude glycerol changes beef steer growth performance and intramuscular fat deposition. *J. Anim. Sci.* **86**, E-Suppl.2, 478.
- Vestergaard, M., N. Oksbjerg, and P. Henkel. 2000.** Influence of feeding intensity, grazing and finishing feeding on muscle fibre characteristics and meat color of semitendinosus, longissimus dorsi and supraspinatus muscle of young bulls. *Meat Sci.* **54**: 177–186.
- Weekes, T.E.C. 1991.** Hormonal control of glucose metabolism. *In* T. Tsuda, Y. Sasaki, Kawashima, R., Eds. *Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants*. Proc. 7th Int. Symp. Rumin. Physiol. Aug. 28-Sept. 1, 1989, Japan. Academic Press, San Diego, CA.

Wegner, J., Albrecht, E., Fiedler, I., et.al. 2000. Growth- and breed-related changes of muscle fiber characteristics in cattle. J. Anim. Sci. **78**: 1485-1496.

Wheeler, T.L.; Schackelford, S.D.; Koohmaraie, M. 2001. Shear force procedures for meat tenderness measurement. Clay Center: Roman L. Hruska U.S. MARC. USDA. 7p.

Woessner Junior, J.F. 1961. The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this amino acid. Archive Of Biochemistry And Biophysics. **93**: 440-447.

Wulf, D.M.; Emnett, R.S.; Leheska, J.M. et al. 2002. Relationships among glycolytic potential, dark cutting (dark, firm and dry) beef, and cooked beef palatability. J. Anim. Sci. **80**: 1895-1903.

CONCLUSÕES FINAIS

A glicerina bruta é um alimento energeticamente satisfatório como ingrediente para ração de bovinos, pois apresenta $934,5 \text{ g.kg}^{-1}$ de NDT e $3,64 \text{ Mcal.kg}^{-1}$ de EM por quilo de matéria seca, valores superiores ou maiores que os alimentos energéticos comumente utilizados em confinamentos.

Além disso, a inclusão de glicerina bruta até 20% da dieta não altera o padrão de consumo dos animais, provocando mínimas alterações do padrão fermentativo do rúmen e ainda aumenta a digestibilidade ruminal, sem afetar o desempenho produtivo, as características de carcaça e qualidade da carne. Dietas com até este nível de glicerina, permitem ao pecuarista produzir carnes que atendem as exigências de qualidade dos frigoríficos.

A glicerina como uma alternativa ao milho mostra-se bastante promissora. Até o nível de inclusão de 20% da MS, seu uso em dietas de bovinos de corte oriundos de cruzamento industrial contribui para melhorar a concentração de energia das dietas.

APÊNDICE

Tabela 1 – Consumo (kg/dia) de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), extrato etéreo (EE), carboidratos não fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT) de tourinhos em terminação alimentados com níveis de inclusão de glicerian bruta nas dietas

Animal	Tratamento	Período	Consumo, kg.d ⁻¹							Consumo MS, kg/PC ⁻¹
			MS	MO	PB	FDNcp	EE	CNF	NDT	
48	0	1	7.38	7.15	1.17	2.09	0.26	4.14	6.23	2.03
47	5	1	7.93	7.62	1.17	2.23	0.28	4.37	6.47	2.17
51	10	1	6.63	6.35	1.04	2.19	0.26	3.35	6.04	1.87
50	15	1	7.50	7.12	1.05	2.25	0.28	3.89	6.14	2.38
49	20	1	5.94	5.63	0.92	1.79	0.24	3.05	5.57	1.78
49	0	2	6.94	6.71	1.04	2.17	0.23	3.69	5.99	2.08
48	5	2	8.87	8.49	1.23	2.69	0.30	4.65	7.00	2.39
50	10	2	9.38	8.95	1.36	2.71	0.34	5.00	7.68	2.80
47	15	2	9.95	9.45	1.36	2.93	0.36	5.20	8.36	2.58
51	20	2	7.91	7.48	1.10	2.37	0.30	4.06	6.79	2.19
47	0	3	9.20	8.86	1.33	2.83	0.31	4.90	7.53	2.00
50	5	3	9.02	8.67	1.29	2.69	0.32	4.81	7.15	2.24
49	10	3	5.60	5.36	0.82	1.72	0.21	2.96	5.07	1.45
51	15	3	8.20	7.76	1.17	2.49	0.32	4.21	7.39	2.00
48	20	3	8.46	8.00	1.17	2.45	0.33	4.42	7.20	2.01
51	0	4	6.40	6.18	1.01	2.27	0.22	3.13	5.23	1.54
49	5	4	7.43	7.12	1.06	2.39	0.25	3.80	6.32	1.88
47	10	4	9.13	8.71	1.37	2.73	0.33	4.78	7.31	1.94
48	15	4	8.54	8.11	1.24	2.42	0.32	4.54	6.70	1.93
50	20	4	7.92	7.48	1.16	2.24	0.31	4.15	6.35	1.93
50	0	5	6.81	6.44	0.98	2.11	0.22	3.54	4.36	1.64
51	5	5	6.64	6.34	0.94	2.15	0.23	3.33	5.15	1.52
48	10	5	7.08	6.73	0.99	2.16	0.25	3.62	4.45	1.56
49	15	5	6.38	6.05	0.95	1.92	0.24	3.27	5.24	1.57
47	20	5	8.76	8.26	1.26	2.52	0.33	4.55	6.74	1.77

Tabela 2 – Coeficiente de digestibilidade aparente total (g/kg MS) da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), extrato etéreo (EE), carboidratos não fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT), energia digestível (ED) e energia metabolizável (EM) de dietas com níveis de inclusão de glicerina bruta.

Animal	Tratamento	Período	Digestibilidade, g.kg ⁻¹							ED	EM
			MS	MO	PB	FDNcp	EE	CNF	NDT	Kcal.kg ⁻¹ MS	Kcal.kg ⁻¹ MS
48	0	1	756.55	775.27	702.65	642.01	778.07	874.13	843.30	3.65	3.24
47	5	1	748.45	766.86	695.90	599.38	763.89	877.34	815.82	3.53	3.11
51	10	1	821.55	838.14	806.49	749.62	842.3	914.70	911.13	3.95	3.54
50	15	1	773.61	785.83	739.28	642.16	781.97	883.17	819.08	3.54	3.13
49	20	1	869.11	880.96	854.43	796.69	880.59	943.10	936.69	4.06	3.66
49	0	2	785.45	801.94	764.42	658.71	799.62	906.18	863.52	3.74	3.33
48	5	2	740.34	756.78	713.33	574.38	746.81	876.84	789.84	3.41	3.00
50	10	2	762.67	778.34	724.47	591.89	774.3	898.44	818.70	3.54	3.13
47	15	2	797.56	812.18	760.77	657.62	801.6	912.71	840.83	3.63	3.22
51	20	2	812.97	826.41	776.64	689.54	818.17	921.47	857.78	3.71	3.30
47	0	3	751.58	767.41	763.57	634.02	764.06	856.73	818.94	3.55	3.13
50	5	3	730.40	748.80	744.97	564.99	745.53	859.48	792.13	3.43	3.02
49	10	3	828.47	848.17	755.64	696.22	840.31	967.08	905.96	3.91	3.50
51	15	3	845.01	862.36	817.77	772.42	856.98	927.52	901.17	3.90	3.49
48	20	3	806.19	820.45	822.67	704.68	813.5	886.47	851.75	3.69	3.28
51	0	4	723.00	749.10	713.61	564.98	743.19	914.00	816.95	3.54	3.13
49	5	4	784.52	803.96	850.70	658.80	791.13	893.05	850.63	3.69	3.28
47	10	4	734.92	751.97	816.31	555.66	750.47	858.73	800.54	3.48	3.07
48	15	4	732.65	747.16	759.50	518.46	744.59	873.38	784.56	3.40	2.99
50	20	4	754.49	767.67	783.71	581.38	766.34	869.34	802.11	3.48	3.07
50	0	5	579.89	597.41	653.71	342.51	586.54	765.64	640.87	2.78	2.36
51	5	5	716.88	739.75	798.72	553.03	724.8	852.94	775.61	3.37	2.95

48	10	5	588.55	603.71	595.78	272.82	594.91	812.67	628.28	2.72	2.30
49	15	5	765.70	781.26	844.11	615.05	775.81	870.75	821.53	3.57	3.16
47	20	5	725.23	740.07	692.53	517.21	734.14	880.95	769.81	3.33	2.92

Tabela 3 – Coeficiente de digestibilidade parcial da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp) de dietas com níveis de inclusão de glicerina bruta.

Animal	Tratamento	Período	Digestibilidade Ruminal, g.kg ⁻¹				Digestibilidade Intestinal, g.kg ⁻¹			
			MS	MO	PB	FDNcp	MS	MO	PB	FDNcp
48	0	1	779.57	809.87	279.26	937.36	220.43	190.13	587.44	62.64
47	5	1	790.88	827.45	355.04	1052.35	209.12	172.55	528.50	-52.35
51	10	1	826.97	840.09	324.39	921.62	173.03	159.91	713.58	78.38
50	15	1	849.56	861.40	264.68	1035.18	150.44	138.60	645.44	-35.18
49	20	1	793.55	844.86	334.32	925.14	206.45	155.14	781.31	74.86
49	0	2	673.54	731.74	200.07	864.81	326.46	268.26	705.49	135.19
48	5	2	732.03	784.51	268.37	922.51	267.97	215.49	608.18	77.49
50	10	2	857.09	889.24	349.96	952.39	142.91	110.76	576.14	47.61
47	15	2	836.42	863.00	317.74	929.32	163.58	137.00	649.35	70.68
51	20	2	863.93	886.25	447.46	930.87	136.07	113.75	595.77	69.13
47	0	3	752.74	804.01	195.35	923.69	247.26	195.99	706.17	76.31
50	5	3	774.11	821.97	249.87	922.21	225.89	178.03	660.02	77.79
49	10	3	755.85	787.51	317.05	848.19	244.15	212.49	642.21	151.81
51	15	3	879.91	900.73	447.99	951.54	120.09	99.27	669.88	48.46
48	20	3	854.31	877.74	400.26	956.01	145.69	122.26	704.32	43.99
51	0	4	671.76	734.83	200.47	815.72	328.24	265.17	641.80	184.28
49	5	4	621.81	674.32	121.02	840.90	378.19	325.68	830.15	159.10

47	10	4	735.17	778.83	178.23	910.31	264.83	221.17	776.47	89.69
48	15	4	686.75	727.01	128.69	878.36	313.25	272.99	723.98	121.64
50	20	4	634.83	678.84	99.38	887.61	365.17	321.16	759.84	112.39
50	0	5	611.31	689.31	57.21	840.98	388.69	310.69	632.70	159.02
51	5	5	647.92	725.98	1.04	840.12	352.08	274.02	798.51	159.88
48	10	5	636.09	707.72	-131.58	760.98	363.91	292.28	642.78	239.02
49	15	5	614.09	670.72	115.84	798.30	385.91	329.28	823.69	201.70
47	20	5	700.26	762.10	-34.77	841.13	299.74	237.90	702.87	158.87

Tabela 4 – Taxas de passagem (kp) e de digestão (kd) de dietas com níveis de inclusão de glicerina bruta

Animal	Tratamento	Período	kp	kd, %.h ⁻¹			
				MS	MO	PB	FDNcp
48	0	1	3.60	5.17	3.07	5.91	2.23
47	5	1	3.84	5.59	3.98	6.39	2.50
51	10	1	1.92	4.08	1.86	4.51	2.28
50	15	1	3.28	6.29	3.08	6.80	3.00
49	20	1	2.88	6.39	3.42	7.31	3.33
49	0	2	4.04	4.55	1.88	5.47	2.56
48	5	2	4.72	5.59	3.08	6.56	3.14
50	10	2	4.17	7.89	5.11	8.85	4.31
47	15	2	3.23	6.48	2.94	7.17	3.29
51	20	2	2.51	5.94	3.03	6.45	3.08
47	0	3	3.35	4.36	1.59	5.13	2.17
50	5	3	3.82	4.97	2.51	5.81	2.63
49	10	3	2.46	4.12	2.56	4.67	2.23
51	15	3	1.63	4.73	2.78	5.18	2.48
48	20	3	3.03	6.70	3.14	7.31	3.08
51	0	4	2.29	2.16	1.32	2.57	1.46
49	5	4	3.97	3.78	1.10	4.40	2.40
47	10	4	4.05	4.76	1.94	5.48	2.62
48	15	4	4.47	4.53	1.34	5.35	2.31
50	20	4	4.08	3.75	0.74	4.18	1.93
50	0	5	3.85	2.11	0.47	2.53	1.07
51	5	5	2.42	2.10	0.01	2.54	1.29
48	10	5	6.24	3.73	-1.41	4.56	1.76
49	15	5	4.48	4.76	1.16	4.84	1.93
47	20	5	3.71	2.43	-0.25	4.35	1.72

Tabela 5 – Pool ruminal de MS e Taxas de passagem (kp) e de digestão de dietas com níveis de inclusão de glicerina bruta matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp) de tourinhos em terminação alimentados com dietas com níveis crescentes de inclusão de glicerina bruta

Animal	Tratamento	Período	Pool MS	kpPB	KpMO	KpFDN
48	0	1	3.51	7.93	3.50	1.47
47	5	1	3.50	7.23	3.68	1.46
51	10	1	4.60	3.87	1.89	1.02
50	15	1	3.26	8.56	3.24	1.51
49	20	1	2.67	6.81	2.51	1.19
49	0	2	3.36	7.50	3.85	1.49
48	5	2	3.58	8.39	4.49	1.55
50	10	2	3.24	9.50	3.94	1.56
47	15	2	4.27	6.30	3.06	1.22
51	20	2	3.90	3.75	2.36	0.99
47	0	3	4.97	6.56	3.18	1.22
50	5	3	4.28	7.54	3.63	1.55
49	10	3	3.55	5.51	2.32	1.00
51	15	3	5.38	3.42	1.49	0.61
48	20	3	3.62	4.70	2.84	1.17
51	0	4	6.00	5.25	2.10	0.79
49	5	4	3.99	8.01	3.72	1.57
47	10	4	4.31	8.93	3.88	1.62
48	15	4	3.95	9.10	4.50	1.78
50	20	4	4.22	6.73	3.84	1.41
50	0	5	4.76	7.68	3.61	1.59
51	5	5	6.12	5.23	2.19	1.01
48	10	5	2.96	12.16	6.11	3.09
49	15	5	3.14	8.84	4.40	2.08
47	20	5	4.84	7.35	3.36	1.52

Tabela 6 – Efeito na substituição do milho por glicerina bruto sobre o pH ruminal e nitrogênio amoniacal no rúmen (N-NH₃) e ácidos graxos voláteis (AGV)

Ani	Trat	Per	pH	N-NH ₃ , mg.dL ⁻¹	AGV, mmol.dL ⁻¹	mmol.dL ⁻¹			A:P ¹	%		
						Ace	Prop	But		Ace	Prop	But
48	0	1	6.35	24.59	.	.	5.23	1.95	.	.	22.31	8.31
47	5	1	6.48	24.31	.	.	4.21	1.83	.	.	20.90	9.09
51	10	1	6.63	24.49	10.70	3.93	4.51	2.26	0.87	36.73	42.18	21.09
50	15	1	6.63	17.21	9.88	3.15	4.29	2.44	0.74	31.90	43.39	24.71
49	20	1	6.53	22.47	9.36	3.15	4.03	2.17	0.78	33.69	43.06	23.24
49	0	2	6.15	29.47	8.34	3.24	2.65	2.44	1.22	38.85	31.84	29.32
48	5	2	5.90	22.39	8.75	3.71	3.06	1.98	1.21	42.37	34.96	22.67
50	10	2	6.23	26.02	7.72	3.12	2.35	2.25	1.33	40.47	30.39	29.14
47	15	2	6.20	19.90	10.51	4.16	4.24	2.11	0.98	39.56	40.36	20.08
51	20	2	6.30	21.15	9.17	5.10	2.63	1.44	1.94	55.61	28.73	15.66
47	0	3	6.63	28.30	9.72	5.34	2.39	1.98	2.23	54.98	24.62	20.40
50	5	3	6.08	22.14	10.04	5.78	2.14	2.12	2.70	57.57	21.30	21.12
49	10	3	6.35	17.26	10.91	5.85	3.08	1.98	1.90	53.59	28.22	18.19
51	15	3	6.50	28.44	11.41	6.29	2.65	2.47	2.37	55.10	23.21	21.69
48	20	3	6.40	17.61	20.05	12.45	5.53	2.06	2.25	62.10	27.60	10.29
51	0	4	6.13	20.43	8.88	3.14	3.38	2.36	0.93	35.37	38.06	26.57
49	5	4	5.68	19.53	10.37	3.38	3.61	3.38	0.93	32.56	34.83	32.61
47	10	4	5.88	15.12	7.78	2.59	3.04	2.15	0.85	33.35	39.06	27.59
48	15	4	5.83	16.89	8.80	3.04	3.39	2.38	0.90	34.51	38.49	27.00
50	20	4	5.83	17.21	9.42	3.09	3.85	2.48	0.80	32.77	40.88	26.35
50	0	5	6.15	20.33	11.42	6.43	3.00	1.98	2.14	56.34	26.27	17.39
51	5	5	6.33	8.76	9.10	4.38	2.79	1.92	1.57	48.14	30.72	21.14
48	10	5	6.93	14.98	11.88	5.90	3.62	2.36	1.63	49.69	30.43	19.88
49	15	5	6.55	19.05	11.02	5.76	3.17	2.08	1.82	52.30	28.79	18.91
47	20	5	6.78	9.81	9.50	3.56	3.82	2.11	0.93	37.54	40.22	22.24

¹/ Relação acetato : propionato

Tabela 7 – Excreção urinária de derivados de purina, síntese e eficiência de síntese microbiana em bovinos de corte alimentados com níveis de glicerina bruta na dieta

Animal	Tratamento	Período	ALA	AcU	DP	ALA:DP	Nmic	Emic
48	0	1	218.43	28.69	247.12	0.88	133.51	134.00
47	5	1	131.08	28.01	159.09	0.82	77.13	74.51
51	10	1	166.03	20.06	186.09	0.89	94.90	98.23
50	15	1	275.64	41.84	317.48	0.87	180.97	184.07
49	20	1	212.86	34.02	246.89	0.86	134.85	151.39
49	0	2	207.78	34.96	242.73	0.86	132.19	137.90
48	5	2	276.33	38.57	314.90	0.88	176.44	157.48
50	10	2	218.09	31.12	249.22	0.88	136.28	110.97
47	15	2	200.75	41.29	242.03	0.83	129.16	96.51
51	20	2	193.82	26.25	220.07	0.88	116.27	107.04
47	0	3	108.75	19.67	128.42	0.85	52.87	43.88
50	5	3	131.11	27.89	159.01	0.82	75.24	65.80
49	10	3	163.47	26.80	190.28	0.86	96.02	118.31
51	15	3	182.22	22.20	204.42	0.89	103.88	87.82
48	20	3	158.92	23.80	182.72	0.87	89.47	77.62
51	0	4	210.02	27.94	237.95	0.88	125.02	149.35
49	5	4	246.92	35.72	282.64	0.87	154.57	152.94
47	10	4	177.31	23.74	201.05	0.88	98.78	84.48
48	15	4	393.39	46.44	439.83	0.89	252.77	235.86
50	20	4	261.63	33.09	294.72	0.89	161.56	159.01
50	0	5	.	9.15	.	.	.	.
51	5	5	.	33.45	.	.	.	.
48	10	5	270.12	31.31	301.43	0.90	163.72	230.11
49	15	5	177.69	23.23	200.93	0.88	101.79	121.36
47	20	5	223.82	30.74	254.56	0.88	131.86	122.22

ALA = alantoina (mmol/dia); AcU = ácido úrico (mmol/dia); DP = derivados de purina excretados na urina (mmol/dia); ALA:DP = relação ALA:DP; Nmic = nitrogênio microbiano ruminal (g/dia); Efic = eficiência microbiana (g PB/kg NDT consumido).

Tabela 8 – Concentração sérica de nitrogênio uréico (SUN), excreção urinária de nitrogênio uréico (ENUE) e excreção de nitrogênio total na urina (NT) de bovinos de corte alimentados com níveis de glicerina na dieta

Animal	Tratamento	Período	SUN, mg.dL ⁻¹	ENUE, mg.kg ⁻¹ PC	ENUE, g.dia ⁻¹	NT, g.dia ⁻¹
48	0	1	7.26	181.01	65.71	129.87
47	5	1	7.59	172.54	62.98	.
51	10	1	8.53	133.02	47.22	97.33
50	15	1	9.28	114.81	36.16	110.79
49	20	1	11.19	190.92	63.77	134.51
49	0	2	10.95	164.34	54.89	119.04
48	5	2	9.06	167.43	62.12	135.52
50	10	2	8.27	165.69	55.51	118.10
47	15	2	8.58	170.85	65.78	121.45
51	20	2	8.86	210.88	76.34	135.01
47	0	3	9.37	125.25	57.62	109.80
50	5	3	12.28	140.93	56.65	117.98
49	10	3	12.83	178.32	68.83	117.22
51	15	3	10.79	125.44	51.43	99.40
48	20	3	10.68	178.28	75.06	143.10
51	0	4	6.80	109.66	45.62	102.65
49	5	4	7.77	172.52	68.32	139.77
47	10	4	11.30	108.85	51.27	110.21
48	15	4	10.20	169.01	74.87	142.62
50	20	4	8.88	139.59	57.37	108.48
50	0	5	8.38	100.91	41.88	82.43
51	5	5	7.17	121.63	53.15	115.05
48	10	5	8.25	121.49	55.28	112.84
49	15	5	9.17	122.71	49.94	99.70
47	20	5	7.90	102.44	50.71	106.74

Tabela 8 – Concentração de insulina serica e glucose plasmática de tourinhos em terminação alimentados com dietas contendo níveis crescentes de glicerina bruta

Animal	Tratamento	Insulina, $\mu\text{g.L}^{-1}$	Glicose, mg.dL^{-1}
1	0	0.62	66.00
2	0	0.56	75.00
3	0	0.57	74.00
4	0	0.88	69.00
5	0	.	82.00
6	0	0.78	82.00
25	20	0.71	76.00
26	20	.	74.00
27	20	1.26	75.00
28	20	1.02	77.00
29	20	.	102.00
30	20	1.05	63.00
13	10	0.61	84.00
14	10	0.64	79.00
15	10	0.78	74.00
16	10	.	103.00
17	10	0.58	70.00
18	10	0.75	83.00
19	15	1.03	79.00
20	15	0.55	69.00
21	15	.	116.00
22	15	.	73.00
23	15	.	75.00
24	15	0.79	71.00
7	5	0.69	94.00
8	5	0.60	85.00
9	5	0.88	80.00
10	5	1.00	.
11	5	.	74.00
12	5	0.61	72.00

Tabela 9 – Consumo (kg/dia) de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), extrato etéreo (EE), carboidratos não fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT) de tourinhos em terminação alimentados com níveis de inclusão de glicerina bruta nas dietas

Animal	Tratamento	Consumo, kg.d ⁻¹							Consumo MS, kg/PC ₁
		MS	MO	PB	FDNcp	EE	CNF	NDT	
1	0	9.41	1.32	3.16	9.09	0.32	4.65	6.48	2.13
2	0	9.24	1.31	2.91	8.88	0.32	4.69	6.30	2.22
3	0	9.33	1.33	3.03	8.96	0.32	4.65	6.81	2.25
4	0	9.59	1.34	2.99	9.22	0.32	4.92	7.05	2.26
5	0	9.41	1.30	3.13	9.03	0.32	4.64	6.79	2.21
6	0	8.32	1.23	2.24	8.01	0.31	4.59	6.12	2.32
19	15	10.82	1.52	3.20	10.24	0.39	5.53	7.92	2.41
20	15	10.49	1.46	3.20	10.01	0.38	5.38	7.47	2.45
21	15	9.61	1.32	2.94	9.09	0.35	4.86	6.51	2.37
22	15	6.95	0.99	1.92	6.63	0.26	3.76	5.64	2.36
23	15	7.26	0.98	2.29	6.87	0.26	3.63	5.43	2.44
24	15	11.19	1.53	3.28	10.63	0.41	5.83	8.01	2.14
25	20	9.71	1.35	2.75	9.18	0.37	5.09	7.22	2.33
26	20	9.77	1.39	3.01	9.30	0.36	4.94	7.83	2.37
27	20	8.77	1.24	2.67	8.30	0.33	4.43	6.46	1.97
28	20	8.77	1.26	2.43	8.29	0.33	4.65	6.84	2.19
29	20	10.30	1.42	3.08	9.69	0.39	5.20	7.25	2.00
30	20	10.02	1.30	2.79	9.54	0.38	5.46	7.50	2.12
7	5	7.77	1.05	2.60	7.45	0.28	3.77	5.97	2.27
8	5	9.62	1.36	2.79	9.20	0.35	5.01	5.99	1.99
9	5	9.59	1.33	3.00	9.19	0.35	4.81	6.30	1.86
10	5	10.76	1.52	3.24	10.29	0.39	5.48	8.16	2.24
11	5	10.27	1.48	2.75	9.82	0.37	5.55	7.56	2.38
12	5	11.50	1.61	3.53	11.00	0.40	5.81	8.13	2.57
13	10	8.22	1.18	2.34	7.87	0.32	4.44	6.24	2.18
14	10	7.90	1.01	2.51	7.57	0.32	4.13	6.22	2.22

15	10	9.17	1.27	2.83	8.74	0.34	4.72	6.84	2.25
16	10	8.03	1.17	2.16	7.65	0.32	4.41	6.28	2.11
17	10	10.49	1.43	3.45	10.01	0.39	5.23	7.04	2.22
18	10	10.29	1.42	3.37	9.81	0.39	5.12	6.76	2.27

Tabela 10 – Coeficiente de digestibilidade aparente total (g/kg MS) da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), extrato etéreo (EE), carboidratos não fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT), energia digestível (ED) e energia metabolizável (EM) de dietas com níveis de inclusão de glicerina bruta

Animal	Tratamento	Digestibilidade, g.kg ⁻¹							ED	EM
		MS	MO	PB	FDNcp	EE	CNF	NDT	Kcal.kg ⁻¹ MS	Kcal.kg ⁻¹ MS
1	0	621.39	635.64	693.52	408.28	834.69	788.62	688.50	3.03	2.61
2	0	622.85	634.99	676.10	395.16	764.93	791.93	682.53	3.00	2.58
3	0	661.61	684.54	638.67	517.33	787.85	824.35	730.20	3.19	2.77
4	0	677.25	694.32	653.51	580.65	726.06	795.04	735.45	3.22	2.80
5	0	659.09	672.71	711.44	439.85	860.16	831.43	721.50	3.17	2.75
6	0	666.46	684.93	692.75	474.93	741.26	805.72	736.13	3.23	2.82
19	15	667.87	694.28	635.55	535.47	813.11	816.66	731.72	3.20	2.78
20	15	638.29	667.51	596.96	445.56	800.55	834.75	712.33	3.11	2.69
21	15	618.34	636.82	658.86	418.52	762.73	782.88	677.52	2.97	2.55
22	15	727.51	759.37	743.26	599.64	895.78	855.23	810.37	3.55	3.14
23	15	688.28	707.14	715.59	476.35	806.57	868.01	747.81	3.28	2.86
24	15	663.01	675.61	703.25	495.87	792.83	784.99	716.09	3.14	2.72
25	20	689.13	706.12	661.12	461.01	786.92	866.16	743.64	3.25	2.83
26	20	737.72	756.18	759.31	576.50	874.92	875.73	801.86	3.52	3.10
27	20	672.16	689.72	669.07	538.65	864.05	799.80	736.07	3.22	2.80
28	20	717.82	734.25	727.67	489.14	904.21	873.25	779.69	3.42	3.00
29	20	651.95	669.81	663.28	444.94	755.28	823.09	703.74	3.08	2.66
30	20	691.09	706.16	673.61	400.07	796.57	884.75	748.67	3.27	2.85

7	5	706.02	726.99	727.10	567.65	835.19	847.07	767.49	3.36	2.94
8	5	571.46	584.97	626.00	494.47	718.61	639.81	622.93	2.74	2.32
9	5	601.94	617.84	815.20	454.30	736.59	680.25	656.55	2.91	2.49
10	5	702.63	723.23	716.31	482.08	792.38	879.90	759.05	3.33	2.91
11	5	675.04	699.91	760.80	285.06	784.39	901.56	736.34	3.24	2.83
12	5	651.05	672.46	647.53	551.77	753.30	767.05	706.90	3.09	2.68
13	10	690.56	699.59	738.28	518.12	802.63	805.27	758.19	3.33	2.91
14	10	704.64	722.06	681.19	585.94	882.93	830.03	787.49	3.43	3.01
15	10	676.70	694.58	686.94	447.26	818.97	863.63	745.40	3.26	2.84
16	10	706.88	723.25	788.19	468.56	849.23	846.84	782.78	3.45	3.03
17	10	600.05	618.50	622.54	426.95	730.99	771.17	671.13	2.94	2.52
18	10	579.10	598.32	526.38	418.07	816.75	758.70	657.25	2.86	2.44

Tabela 11 – Performance de tourinhos em terminação alimentados com dietas contendo níveis crescentes de glicerina bruta

Animal	Tratamento	PC inicial, kg	PC final, kg	GMD ¹ , kg.d ⁻¹	GPCVZ ² , kg.d-1	G:F ³	EDC ⁴
1	0	337	426	1.81	1.98	0.210	0.170
2	0	355	477	2.18	2.36	0.224	0.147
3	0	345	463	1.88	2.05	0.195	0.134
4	0	352	463	2.03	2.26	0.208	0.129
5	0	356	495	1.94	2.13	0.196	0.125
6	0	353	455	1.58	1.72	0.159	0.120
19	15	352	520	2.07	2.07	0.165	0.148
20	15	350	435	1.98	2.02	0.183	0.158
21	15	330	417	2.18	2.16	0.186	0.153
22	15	347	502	1.71	2.47	0.228	0.131
23	15	341	473	1.41	2.54	0.230	0.135
24	15	326	461	2.42	2.56	0.278	0.185
25	20	350	477	2.04	1.96	0.181	0.140

26	20	362	503	2.31	1.85	0.158	0.154
27	20	321	455	1.76	2.14	0.244	0.191
28	20	373	487	2.16	1.73	0.183	0.170
29	20	338	486	2.21	2.16	0.263	0.192
30	20	363	492	1.94	2.20	0.230	0.194
7	5	372	518	1.88	2.19	0.202	0.170
8	5	320	479	1.87	2.14	0.243	0.142
9	5	348	488	1.95	2.45	0.294	0.151
10	5	347	477	2.31	1.80	0.174	0.183
11	5	339	458	2.34	1.52	0.140	0.158
12	5	318	436	2.36	2.60	0.229	0.130
13	10	351	471	1.84	2.25	0.218	0.115
14	10	369	498	1.70	2.52	0.230	0.159
15	10	334	434	1.94	1.95	0.191	0.145
16	10	325	438	1.63	2.38	0.229	0.142
17	10	305	410	1.98	2.41	0.229	0.171
18	10	340	451	2.03	2.15	0.190	0.134

¹/ Ganho de peso médio diário, ²/ ganho de peso diário de corpo vazio, ³/ eficieincia de ganho, ⁴/ eficiência de deposição de carcaça

Tabela 12 – Características de carcaça e rendimento de cortes comerciais tourinhos em terminação alimentados com dietas contendo níveis crescentes de glicerina bruta

Animal	Tratamento	RC ¹ , %	COMP, cm	EGS ² , mm	AOL ³ , cm ²	Rendimento, %						
						Dianteiro	Acém	Paleta	Traseiro	Alcatrra	Coxão	Ponta de Agulha
1	0	57.09	134	6.20	67.00	42.634	24.773	17.86	57.37	18.48	26.88	12.00
2	0	59.20	137	5.95	76.28	41.680	25.409	16.27	58.32	18.31	26.40	13.62
3	0	56.17	135	3.40	74.95	38.410	20.647	17.76	61.59	19.70	27.68	14.21
4	0	58.19	138	3.75	79.86	41.644	25.839	15.81	58.36	18.22	26.98	13.15
5	0	59.07	134	5.60	71.98	42.734	25.096	17.64	57.27	16.49	27.46	13.32

6	0	58.41	130	2.35	70.50	42.513	25.434	17.08	57.49	17.98	26.54	12.97
19	15	57.23	135	5.90	81.83	42.619	25.577	17.04	57.38	17.89	25.67	12.93
20	15	59.49	138	4.65	90.25	32.199	13.265	18.93	67.80	17.04	27.94	2
21	15	57.70	140	7.10	74.58	40.679	21.638	19.04	59.32	17.04	28.43	13.85
22	15	57.42	134	2.20	86.54	42.253	23.754	18.50	57.75	18.57	26.79	12.39
23	15	55.30	134	2.80	75.52	40.382	25.083	15.30	59.62	19.79	27.07	12.76
24	15	59.50	136	6.95	80.71	31.954	13.674	18.28	68.05	19.94	29.58	18.53
25	20	57.86	136	6.55	74.31	40.728	24.449	16.28	59.27	18.45	26.46	14.36
26	20	59.17	140	8.95	71.02	42.149	23.401	18.75	57.85	16.77	25.98	15.10
27	20	59.89	143	5.85	64.52	43.119	25.871	17.25	56.88	17.43	27.34	12.11
28	20	56.46	135	4.40	80.88	40.489	20.263	20.23	59.51	17.63	29.14	12.74
29	20	57.74	141	3.55	77.16	41.387	22.525	18.86	58.61	17.85	27.51	13.25
30	20	56.94	137	4.15	78.13	41.101	22.345	18.76	58.90	17.83	28.06	13.00
7	5	60.56	136	5.30	68.43	41.742	22.911	18.83	58.26	17.26	28.12	12.89
8	5	58.72	135	3.55	72.11	39.650	21.218	18.43	60.35	18.19	28.70	13.46
9	5	58.59	135	5.15	81.85	42.030	23.157	18.87	57.97	17.14	28.10	12.74
10	5	60.36	140	4.45	82.77	41.831	23.743	18.09	58.17	17.09	28.40	12.68
11	5	60.00	138	7.00	77.47	40.635	22.803	17.83	59.36	19.08	27.20	13.09
12	5	56.90	137	8.65	99.47	41.627	23.085	18.54	58.37	17.11	27.08	14.18
13	10	58.08	135	2.70	77.36	40.514	24.608	15.91	59.49	16.04	28.88	14.57
14	10	58.15	136	4.50	84.30	41.729	26.182	15.55	58.27	17.29	27.61	13.37
15	10	58.16	134	5.45	76.57	42.510	25.202	17.31	57.49	17.68	26.89	12.92
16	10	59.91	134	3.75	74.69	42.470	24.175	18.29	57.53	16.69	27.15	13.69
17	10	58.22	140	11.30	80.87	43.752	24.639	19.11	56.25	16.47	28.09	11.69
18	10	59.53	136	6.45	90.76	41.664	26.291	15.37	58.34	19.12	25.91	13.31

Tabela 13 – Composição corporal tourinhos em terminação alimentados com dietas contendo níveis crescentes de glicerina bruta

Animal	Tratamento	Composição Física, %			Composição Química, %		
		Músculo	Gordura	Ossos	EE	PB	Água
1	0	60.87	22.89	16.24	16.65	16.42	56.78
2	0	53.88	30.14	15.98	17.31	17.52	56.99
3	0	64.06	19.86	16.08	14.71	15.30	60.52
4	0	58.33	24.20	17.48	15.15	16.83	56.35
5	0	58.28	23.73	17.99	16.59	15.77	58.84
6	0	65.44	18.25	16.32	15.55	14.32	57.93
19	15	58.57	26.09	15.34	14.70	16.42	57.83
20	15	61.88	20.48	17.64	15.82	16.62	57.14
21	15	62.32	21.41	16.28	14.93	17.34	58.28
22	15	62.53	21.35	16.12	14.64	14.78	57.46
23	15	63.70	21.21	15.09	19.59	16.50	53.20
24	15	62.84	20.92	16.23	15.47	15.47	58.87
25	20	61.76	23.67	14.57	17.07	15.57	56.59
26	20	60.22	23.22	16.57	16.50	16.13	56.71
27	20	64.30	20.39	15.31	14.29	17.08	59.31
28	20	59.07	25.31	15.62	17.57	16.49	56.90
29	20	56.68	28.62	14.69	17.13	15.70	55.38
30	20	61.37	23.25	15.37	16.83	15.20	58.14
7	5	63.59	21.44	14.97	14.18	14.70	57.57
8	5	56.96	23.45	19.59	14.67	14.49	58.07
9	5	62.83	16.23	20.93	14.26	17.07	61.61
10	5	58.56	25.12	16.32	18.82	12.71	57.10
11	5	62.35	21.99	15.66	16.20	15.14	57.72
12	5	54.72	28.74	16.55	16.97	17.82	57.10
13	10	61.98	21.88	16.14	14.17	16.42	58.66
14	10	58.85	25.84	15.32	16.98	14.64	57.16
15	10	63.07	20.19	16.73	15.61	16.38	58.55
16	10	64.09	20.90	15.01	14.97	14.58	58.53
17	10	62.29	20.11	17.59	14.56	14.81	59.41
18	10	59.45	25.45	15.09	16.85	18.78	55.69

Tabela 14 – Composição de ganho corporal de tourinhos em terminação alimentados com dietas contendo níveis crescentes de glicerina bruta

Animal	Tratamento	Composição Física do ganho de cachaça, %			Composição Química do ganho de carcaça, %		
		Músculo	Gordura	Ossos	EE	PB	Água
1	0	54.05	36.29	9.65	28.73	16.92	54.35
2	0	34.69	56.20	9.11	29.76	19.10	51.14
3	0	61.81	29.04	9.15	22.90	13.00	64.10
4	0	48.38	42.13	9.49	26.05	18.99	54.96
5	0	49.46	40.58	9.96	27.65	14.29	58.06
6	0	65.89	25.63	8.48	29.03	10.26	60.72
19	15	48.02	41.99	9.99	22.89	17.47	59.64
20	15	59.46	29.37	11.17	24.83	17.82	57.35
21	15	58.27	31.39	10.35	22.38	19.25	58.38
22	15	57.72	33.23	9.04	25.74	12.75	61.51
23	15	59.45	31.34	9.21	38.67	17.42	43.91
24	15	59.66	29.66	10.68	23.91	14.59	61.50
25	20	53.83	37.09	9.08	30.92	14.53	54.54
26	20	53.54	36.10	10.36	27.70	16.47	55.83
27	20	61.62	28.15	10.22	20.44	18.49	61.07
28	20	48.42	42.26	9.32	30.82	16.52	52.66
29	20	42.15	48.35	9.49	31.32	15.58	53.09
30	20	54.91	34.89	10.21	27.74	13.57	58.69
7	5	59.66	29.93	10.41	22.44	13.78	63.78
8	5	45.25	45.90	8.85	27.05	10.73	62.22
9	5	67.39	23.16	9.46	20.70	17.01	62.29
10	5	50.27	38.78	10.96	33.42	7.71	58.87
11	5	57.53	32.21	10.25	26.86	13.82	59.32
12	5	38.83	51.37	9.80	27.88	19.89	52.23
13	10	55.18	37.17	7.65	23.57	16.84	59.59
14	10	48.60	41.43	9.96	29.71	12.35	57.94
15	10	60.23	30.45	9.32	25.68	16.32	58.00
16	10	60.11	31.15	8.74	25.86	11.53	62.61
17	10	60.09	29.24	10.66	22.47	12.93	64.61
18	10	48.28	42.83	8.89	28.84	23.18	47.98

Tabela 15 – Consumo de energia metabolizável (CEMet) e relação sérica de insulina:glicose (Ins:Gli), de acordo com os tratamentos experimentais

Animal	Tratamento	CEMet, Mkal.d ⁻¹	%			
			Água	Proteína	EE	Cinzas
1	0	24.53	.	.	.	.
2	0	23.83	77.4	19.88	1.51	1.21
3	0	25.89	79.31	18.82	0.97	0.90
4	0	26.83	77.94	18.93	1.74	1.40
5	0	25.85	78.29	18.58	2.37	0.77
6	0	23.42	79.22	17.50	2.21	1.07
7	15	30.06	78.05	19.35	1.68	0.92
8	15	28.20	77.11	18.90	2.25	1.74
9	15	24.50	77.53	18.87	2.39	1.20
10	15	21.80	76.18	19.92	1.19	2.71
11	15	20.75	78.80	18.46	1.52	1.21
12	15	30.45	.	.	.	.
13	20	27.50	76.15	19.14	3.91	0.81
14	20	30.30	76.22	20.55	2.27	0.96
15	20	24.60	.	.	.	.
16	20	26.34	77.43	19.65	2.15	0.77
17	20	27.42	78.56	18.60	2.05	0.79
18	20	28.53	77.23	19.27	2.24	1.26
19	5	22.88	79.40	18.72	1.03	0.85
20	5	22.28	.	.	.	.
21	5	23.92	.	.	.	.
22	5	31.32	79.09	17.66	1.88	1.37
23	5	29.04	78.18	17.87	1.69	2.27
24	5	30.77	81.21	15.55	1.20	1.04
25	10	23.97	.	.	.	.
26	10	23.81	77.86	18.05	2.32	1.77
27	10	26.10	79.38	18.31	1.61	0.71
28	10	24.33	76.16	22.66	0.23	0.95
29	10	26.39	77.05	19.44	2.79	0.73
30	10	25.10	77.49	17.76	3.43	1.31

Tabela 16 – Proporção de fibras musculares no músculo *Longissimus dorsi* de animais em função dos diferentes níveis de inclusão de glicerina bruta em substituição ao milho

Animal	Tratamento	Proporção das fibras musculares, %			Área de seção transversal das fibras musculares, μm^2		
		I	IIA	IIB	I	IIA	IIB
1	0	.	.	.	.	.	.
2	0	34.78	26.52	38.70	1509.87	2614.85	3554.57
3	0	32.96	29.37	37.67	2008.87	2697.85	3517.46
4	0	31.26	24.01	44.73	1598.86	2229.38	3576.01
5	0	27.99	23.62	48.39	1881.69	2393.34	3149.51
6	0	29.76	26.24	44.01	1732.48	2152.31	3142.63
7	15	29.35	26.07	44.57	2219.57	2307.65	2786.18
8	15	31.17	26.28	42.55	2424.23	2540.76	3414.22
9	15	27.79	31.00	41.21	1926.03	2476.99	3342.62
10	15	30.20	32.61	37.19	1639.42	2356.57	2919.51
11	15	36.22	17.69	46.09	1606.03	2642.13	2724.91
12	15	29.83	27.11	43.06	1909.60	2841.43	3539.18
13	20	.	.	.	.	.	.
14	20	30.66	26.31	43.03	2012.34	2594.96	2912.13
15	20	30.03	24.86	45.11	2145.26	2919.85	3656.68
16	20	29.89	26.46	43.65	1768.11	2525.70	3176.18
17	20	28.34	28.71	42.95	2367.96	2674.25	3410.91
18	20	30.09	23.95	45.96	2072.78	2555.20	2453.75
19	5	28.82	26.57	44.61	1832.47	2355.25	3140.67
20	5	32.01	23.64	44.35	1872.44	1839.57	3534.28
21	5	28.79	26.74	44.48	1623.78	2289.85	2879.80
22	5	31.33	32.93	35.74	1565.42	2191.40	2744.45
23	5	30.77	28.88	40.35	1573.57	2270.36	2701.62
24	5	31.45	24.75	43.80	1705.69	2451.06	3240.20
25	10	34.98	26.87	38.15	1584.89	2176.25	3305.19
26	10	31.48	25.42	43.09	1734.24	2280.80	2503.18
27	10	28.76	25.18	46.05	1648.64	2216.88	2606.25
28	10	32.65	25.89	41.47	1861.26	2345.87	3342.47
29	10	30.07	27.33	42.60	1592.24	2513.88	3274.99
30	10	31.89	26.21	41.89	1479.88	2216.60	3381.59

Tabela 17 – pH inicial (pHi) e final (pHf) da carcaça, peso de carcaça quente (PCQ), peso de carcaça fria (PCF), quebra por resfriamento (QRES), de acordo com os tratamentos experimentais

Animal	Tratamento	PCQ, kg	PCF, kg	Qres, %	pH	
					inicial	final
1	0	306.00	299.65	2.08	7.31	5.80
2	0	330.70	325.45	1.59	6.85	5.58
3	0	302.60	295.60	2.31	6.96	5.63
4	0	299.55	293.20	2.12	7.34	5.54
5	0	327.25	319.70	2.31	7.11	5.64
6	0	273.05	267.75	1.94	6.80	6.12
7	15	291.75	285.65	2.09	7.36	5.73
8	15	318.95	312.00	2.18	7.32	5.65
9	15	338.00	332.00	1.78	7.02	5.65
10	15	272.85	266.55	2.31	6.70	5.77
11	15	287.05	281.40	1.97	6.75	5.68
12	15	337.25	330.05	2.13	7.17	5.94
13	20	340.09	333.95	1.81	6.77	5.55
14	20	305.05	301.60	1.13	7.57	5.72
15	20	328.85	321.7	2.17	6.89	5.61
16	20	301.45	295.45	1.99	7.11	5.61
17	20	335.75	328.55	2.14	6.70	6.09
18	20	308.60	296.80	3.82	7.45	5.66
19	5	303.80	297.50	2.07	7.28	5.65
20	5	299.15	286.85	4.11	7.12	5.65
21	5	299.40	292.25	2.39	7.24	5.77
22	5	324.20	317.35	2.11	7.32	5.64
23	5	309.15	302.20	2.25	7.23	5.62
24	5	343.50	336.50	2.04	7.31	5.63
25	10	284.75	274.45	3.62	7.11	5.80
26	10	269.55	263.30	2.32	6.73	5.62
27	10	282.00	276.10	2.09	6.97	5.60
28	10	290.00	283.30	2.31	6.82	6.60
29	10	320.05	313.60	2.02	7.43	5.65
30	10	312.35	307.25	1.63	7.39	5.57

Tabela 18 - Força de cisalhamento (FC), índice de fragmentação miofibrilar (IMF), colágeno total (CT) e colágeno solúvel (CS) da carne dos animais, de acordo com os níveis de inclusão da glicerina bruta na dieta

Animal	Tratamento	FC, kgf	IMF, %	CT, mg.g ⁻¹	CS, %
1	0	2.52	63.00	5.88	27.79
2	0	2.32	58.40	6.12	29.11
3	0	2.46	59.50	5.88	27.87
4	0	2.42	69.00	5.43	29.91
5	0	4.81	68.20	5.25	31.53
6	0	3.32	53.10	5.95	28.93
7	15	2.99	62.10	5.75	29.31
8	15	2.56	61.40	5.19	30.85
9	15	1.75	66.40	6.16	27.93
10	15	3.33	49.90	5.89	26.33
11	15	3.38	63.00	6.21	28.83
12	15	3.73	46.50	5.49	30.96
13	20	4.01	52.80	5.68	29.27
14	20	3.32	65.20	6.21	26.56
15	20	2.66	65.00	5.32	31.16
16	20	2.59	62.10	6.00	26.67
17	20	2.80	65.50	6.37	27.02
18	20	3.64	61.90	5.65	29.80
19	5	3.29	51.40	5.61	27.88
20	5	3.85	54.30	5.61	29.76
21	5	2.01	77.50	5.00	31.12
22	5	3.37	54.90	5.35	29.36
23	5	2.95	49.20	5.21	30.57
24	5	2.14	48.80	5.63	29.54
25	10	1.77	48.60	6.36	25.48
26	10	3.31	47.40	4.95	32.00
27	10	3.20	49.00	5.45	30.65
28	10	3.35	54.30	6.46	25.62
29	10	2.94	54.80	7.05	25.93
30	10	2.79	51.70	6.12	26.85

Tabela 19 – Valores das perdas por descongelamento (PDESC), perdas por gotejamento (PGOT), perdas por evaporação (PEVAP), perdas por cocção (PCOC) e perdas totais (PTOTAIS) da carne dos animais, de acordo com os níveis de inclusão de glicerina bruta na dieta

Animal	Tratamento	%				
		PDESC	PGOT	PEVAP	PCOC	PTOTAIS
1	0	12.61	2.94	18.74	21.68	29.22
2	0	12.47	11.64	16.49	28.13	34.79
3	0	5.74	4.38	19.46	23.84	27.66
4	0	8.65	8.17	21.28	29.45	35.56
5	0	7.55	3.52	11.04	14.55	20.14
6	0	4.16	6.46	15.37	21.83	24.98
7	15	5.94	6.45	9.16	15.61	19.50
8	15	3.68	6.42	7.35	13.77	16.61
9	15	4.94	5.84	8.59	14.44	16.36
10	15	5.34	5.80	10.42	16.22	19.55
11	15	2.81	7.42	14.69	22.11	23.66
12	15	8.32	4.60	17.35	21.95	28.28
13	20	13.30	1.89	15.90	17.79	27.15
14	20	5.16	1.77	15.66	17.43	26.00
15	20	8.55	2.27	20.68	22.95	28.64
16	20	11.90	0.67	16.85	17.52	26.46
17	20	10.41	6.85	18.55	25.40	34.90
18	20	8.05	6.43	19.46	25.89	27.28
19	5	9.79	3.74	18.08	21.82	30.16
20	5	10.57	0.97	16.94	17.90	27.04
21	5	7.12	1.58	20.01	21.60	30.97
22	5	10.46	5.06	56.71	14.75	24.52
23	5	5.83	9.97	18.35	28.32	33.29
24	5	6.60	4.13	65.62	27.62	32.57
25	10	8.57	5.72	26.16	31.88	37.90
26	10	9.84	4.54	20.79	25.33	32.76
27	10	6.34	5.81	19.15	24.96	29.30
28	10	2.36	2.35	17.18	19.53	21.33
29	10	11.05	1.75	15.74	17.49	26.72
30	10	8.82	5.90	21.08	26.99	33.18

Tabela 20 – Variáveis da avaliação instrumental de cor da carne dos animais, de acordo com os níveis de inclusão de glicerina bruta na dieta

Animal	Tratamento	L*	a*	b*
1	0	38.49	14.81	7.98
2	0	41.41	16.33	8.66
3	0	40.94	17.53	10.56
4	0	37.89	15.22	7.63
5	0	35.57	16.23	9.37
6	0	39.23	18.63	9.29
7	15	37.91	16.16	7.89
8	15	40.17	16.70	9.64
9	15	39.23	17.09	9.69
10	15	35.83	14.75	7.40
11	15	40.50	18.79	10.04
12	15	40.02	18.06	9.41
13	20	40.92	19.11	10.65
14	20	37.90	16.25	8.42
15	20	38.14	20.14	11.08
16	20	40.22	18.24	10.06
17	20	39.87	17.04	10.70
18	20	39.66	18.21	9.68
19	5	38.48	18.39	9.67
20	5	39.03	17.49	9.33
21	5	39.95	15.24	7.31
22	5	35.96	16.14	8.47
23	5	40.41	18.76	10.14
24	5	39.40	16.51	8.12
25	10	43.14	16.24	9.01
26	10	42.24	18.52	11.79
27	10	41.57	18.75	10.08
28	10	33.52	13.63	6.73
29	10	35.67	15.39	8.95
30	10	41.81	17.45	11.31