

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Inclusão de glicerina bruta em substituição parcial ao milho na
dieta de ovinos**

Daniel Montanher Polizel

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência
Animal e Pastagens

**Piracicaba
2014**

Daniel Montanher Polizel
Zootecnista

Inclusão de glicerina bruta em substituição parcial ao milho na dieta de ovinos
versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientadora:
Prof^a Dr^a **IVANETE SUSIN**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência
Animal e Pastagens

Piracicaba
2014

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP**

Polizel, Daniel Montanher

Inclusão de glicerina bruta em substituição parcial ao milho na dieta de ovinos / Daniel Montanher Polizel. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2014.

119 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2013.
Bibliografia.

1. Cordeiros 2. Subproduto 3. Glicerol 4. Biodiesel 5. Confinamento I. Título

CDD 636.3085
P769i

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Aos meus pais, *Sergio e Irani*, pelo amor, compreensão, carinho, paciência, pelos tão profundos ensinamentos e por sempre acreditarem nos meus sonhos.

A minha irmã, *Aline*, pelo companheirismo, amizade e apoio

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por iluminar e guiar minha vida em todos os momentos.

Aos meus pais, Sergio Luiz Polizel e Irani Cristina Montanher Polizel, e minha irmã, Aline Montanher Polizel, fontes de todas as minhas inspirações. Sempre compreensivos e os maiores incentivadores para a realização dos meus sonhos.

A minha namorada, Marília da Silva Sartori, por toda paciência, compreensão, carinho e apoio em todos os momentos dessa caminhada.

A Universidade Estadual Paulista, campus Botucatu, pela formação profissional, e também a todos os professores de tal instituição que me apoiaram e incentivaram minha decisão de dar continuidade aos estudos.

A Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP) e ao Departamento de Zootecnia pela oportunidade de realização da pós-graduação.

A professora Ivanete Susin, por abrir inúmeras portas em minha vida, pelos ensinamentos e lições, paciência e confiança para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor Alexandre Vaz Pires pelas valiosas contribuições e ensinamentos ao longo das atividades

A professora Maria Claudia Araripe Sucupira pelo apoio ao longo das atividades e auxílio nas análises laboratoriais.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pela concessão da bolsa de estudos.

Aos funcionários do SIPOC: José Marcos, Joseval, Adilson, Roberto, Expedito e dona Ilda, pela paciência e agradável convívio.

Aos integrantes do grupo de pesquisa e amigos da pós-graduação: Renato, Evandro, Michelle, Cris, Marcão, Delci, Rodrigo, Ana Paula, Fernanda, José Alípio, Elizangela, Marquinho, Ângelo e Vinícius.

Aos estagiários que sempre compreenderam as razões dos nossos inúmeros apelos pela presença de todos ao longo do desenvolvimento das pesquisas: Pirulão, Rabicó, HP, Colã, Manon, Keda-livri, Măxeti, Pok-sôbra, Băton, Fêmea, Carol e Neskui-q.

Enfim, a todos que fizeram parte dos mais diversos momentos de minha vida, por me ensinar a caminhar e sempre após as quedas, também me ensinaram a levantar e seguir em frente,

Muito Obrigado

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	13
LISTA DE FIGURAS.....	15
LISTA DE TABELAS.....	17
1 INTRODUÇÃO.....	19
Referências.....	20
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	23
2.1 Origem e caracterização da glicerina bruta.....	23
2.2 Glicerina bruta na nutrição de ruminantes.....	24
2.3 Fermentação ruminal e digestibilidade dos nutrientes.....	25
2.4 Desempenho de animais em crescimento.....	28
2.5 Desempenho de animais em lactação.....	30
Referências.....	32
3 SUBSTITUIÇÃO PARCIAL DO MILHO PELA GLICERINA BRUTA: DESEMPENHO, CONCENTRAÇÃO DE ENZIMAS HEPÁTICAS, CARACTERÍSTICAS DA CARÇAÇA E DA CARNE DE CORDEIROS SANTA INÊS.....	37
Resumo.....	37
Abstract.....	37
3.1 Introdução.....	38
3.2 Material e Métodos.....	39
3.2.1 Animais e instalações experimentais	39
3.2.2 Delineamento experimental, tratamentos e manejo alimentar.....	39
3.2.3 Parâmetros enzimáticos.....	42
3.2.4 Abate dos animais e características da carcaça.....	42
3.2.5 Características da carne.....	43
3.2.5.1 Perfil de ácidos graxos da carne.....	43
3.2.5.2 Cor.....	44
3.2.5.3 Perda de peso por cozimento (PPC).....	44
3.2.5.4 Força de cisalhamento.....	45
3.2.6 Análise estatística.....	45
3.3 Resultados e discussão.....	46

3.4 Conclusão.....	56
Referências.....	56
4 SUBSTITUIÇÃO PARCIAL DO MILHO PELA GLICERINA BRUTA: DESEMPENHO E CARACTERÍSTICAS DA CARÇA DE CORDEIROS WHITE DORPER X SANTA INÊS.....	61
Resumo.....	61
Abstract.....	61
4.1 Introdução.....	62
4.2 Material e métodos.....	63
4.2.1 Animais e instalações experimentais.....	63
4.2.2 Delineamento experimental, tratamentos e manejo alimentar.....	64
4.2.3 Parâmetros enzimáticos.....	66
4.2.4 Abate dos animais e características da carcaça.....	66
4.2.5 Análise estatística.....	67
4.3 Resultados e discussão.....	68
4.4 Conclusão.....	73
Referências.....	73
5 SUBSTITUIÇÃO PARCIAL DO MILHO PELA GLICERINA BRUTA: DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES, METABOLISMO RUMINAL E BALANÇO DE NITROGÊNIO.....	77
Resumo.....	77
Abstract.....	77
5.1 Introdução.....	78
5.2 Material e métodos.....	79
5.2.1 Animais e instalações experimentais.....	79
5.2.3 Delineamento experimental, tratamentos e manejo alimentar.....	80
5.2.4 Digestibilidade dos nutrientes.....	82
5.2.5 Balanço de nitrogênio.....	82
5.2.6 Consumo de água.....	83
5.2.7 Colheita e análise do fluido ruminal.....	83
5.2.8 Parâmetros sanguíneos.....	84
5.2.9 Análise estatística.....	85
5.3 Resultados e discussão.....	85
5.4 Conclusão.....	92

Referências.....	92
6 DESEMPENHO E METABÓLITOS SANGUÍNEOS DE OVELHAS ALIMENTADAS, NO FINAL DA GESTAÇÃO E LACTAÇÃO, COM DIETAS CONTENDO GLICERINA BRUTA.....	95
Resumo.....	95
Abstract.....	95
6.1 Introdução.....	96
6.2 Material e métodos.....	98
6.2.1 Animais e instalações.....	98
6.2.2 Delineamento experimental, tratamentos e manejo alimentar.....	98
6.2.3 Produção e composição do leite.....	101
6.2.4 Parâmetros sanguíneos.....	102
6.2.5 Desempenho dos cordeiros.....	102
6.2.6 Análise estatística.....	103
6.3 Resultados e discussão.....	104
6.4 Conclusão.....	114
Referências.....	115
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	119

RESUMO

Inclusão de glicerina bruta em substituição parcial ao milho na dieta de ovinos

Os efeitos do fornecimento de dietas contendo glicerina bruta foram avaliados em quatro experimentos com ovinos de diferentes categorias. **Experimento 1:** Quarenta cordeiros foram usados para avaliar os efeitos da inclusão de glicerina bruta sobre o desempenho, as características de carcaça e da carne e a concentração de enzimas hepáticas. As rações experimentais foram isonitrogenadas, sendo que o ajuste proteico foi realizado pela inclusão de ureia e farelo de soja. Os teores de inclusão de glicerina bruta foram: 0, 5, 10 ou 15% na MS. A adição de glicerina bruta causou efeito quadrático no CMS, CFDN, CPB, GMD e peso final. A inclusão de glicerina causou efeito quadrático para peso corporal ao abate, PCQ e PCF. Foi observado efeito quadrático para os ácidos graxos mirístico, palmítico, palmitoleico, linoleico e rumênico. A glicerina bruta demonstrou ser um bom substituto do milho em dietas com alto teor de concentrado, melhorando o desempenho e as características da carcaça dos animais quando incluída até 10% na MS. **Experimento 2:** Cinquenta cordeiros(as) foram usados para avaliar os efeitos da inclusão de glicerina bruta em rações com alta proporção de concentrado, sobre o desempenho, características de carcaça e parâmetros enzimáticos. As rações experimentais foram isonitrogenadas, sendo o ajuste proteico realizado pela inclusão de farelo de soja. Os teores de inclusão de glicerina bruta foram: 0, 5, 10, 15 e 20% na MS. A inclusão de glicerina bruta não afetou as variáveis de desempenho analisadas. Houve apenas efeito linear para o CMM. A glicerina bruta pode substituir o milho em até 20%, mantendo o desempenho dos animais e as características de carcaça. **Experimento 3:** Cinco borregos canulados no rúmen foram utilizados para avaliar os efeitos da glicerina bruta sobre os parâmetros ruminais, a digestibilidade das dietas e o metabolismo de nitrogênio. As dietas foram isonitrogenadas e os teores de inclusão de glicerina bruta foram: 0, 5, 10, 15 ou 20% na MS. Houve redução linear na ingestão de FDN e aumento linear na ingestão de MM. Houve efeito linear crescente para a digestibilidade da MS e MO. A inclusão de glicerina bruta causou redução linear no acetato, relação C2:C3, AGCC total, e aumento linear no pH ruminal. A glicerina bruta pode substituir até 20% do milho em dietas de borregos, melhorando a digestibilidade da MS e MO. **Experimento 4:** Cento e dezoito ovelhas com 90 dias de prenhez foram utilizadas para avaliar a inclusão de glicerina bruta em dietas de gestação e lactação. Os teores de inclusão foram 0 ou 10%. Da segunda a oitava semana foi mensurado o CMS e produção de leite das ovelhas e a ingestão de concentrado inicial dos cordeiros. A inclusão de glicerina bruta aumentou o CMM e reduziu a porcentagem de gordura no leite. A adição da glicerina bruta na dieta das ovelhas diminuiu a concentração sérica de AGNE. A inclusão de 10% de glicerina bruta na dieta de ovelhas durante a gestação e lactação não prejudica o desempenho dos animais e reduz a possibilidade de ocorrência de toxemia da gestação.

Palavras-chave: Cordeiros; Co-produto; Glicerol; Biodiesel; Confinamento

ABSTRACT

Inclusion of crude glycerin in partial replacement by corn in sheep diets.

The effects of feeding diets with crude glycerin were evaluated in 4 trials using different categories of sheep. **Experiment 1:** Forty Santa Inês ram lambs were used to determine the effects of partial replacement of corn by crude glycerin on growth, hepatic enzymes, carcass and meat characteristics of lambs fed high-concentrate diets. The diets were isonitrogenous and the protein was adjusted by increasing urea and soybean meal. Increasing levels of crude glycerin were: 0, 5, 10 or 15%. There was quadratic effect for DMI, NDFI, CPI, ADG and final weight. There was a quadratic effect for slaughter BW and dressing percentage, but no difference on longissimus muscle area, backfat thickness and body wall thickness. There was quadratic effect for myristic, palmitic, palmitoleic, linoleic and rumenic acid. Crude glycerin is a good substitute of corn in high-concentrate diets, improving performance and carcass characteristics when included until 10% of the diet DM. **Experiment 2:** Fifty lambs were used to determine the effects of partial replacement of corn by crude glycerin on growth, carcass characteristics and hepatic enzymes of lambs fed high concentrate diets. The diets were isonitrogenous and the protein adjusted was performed with increased soybean meal. Increasing levels of crude glycerin were: 0, 5, 10, 15 or 20%. There was an increased in mineral matter intake. Crude glycerin can be used as a substitute for corn in high concentrate diets of ram lambs without affecting performance and carcass characteristics. **Experiment 3:** Five Santa Inês ram lambs, cannulated in the rumen, were used to determine the effects of using crude glycerin on ruminal constituents, diet digestibility and nitrogen metabolism. The diets were isonitrogenous and crude glycerin was included in the ration at 0%, 5%, 10%, 15% or 20% in the DM. There was linear decreased on NDF intake and a linear increase in ash intake. Feeding crude glycerin increased DM and OM digestibility. Crude glycerin decreased acetate, acetate:propionate ratio, total SCFA and showed a linear increase on pH. Replacing corn by crude glycerin up to 20% of dietary DM increased DM and OM digestibility, maintained propionate and decreased acetate and total SCFA. When soybean meal was used to adjust the diet protein level, there were no changes on nitrogen metabolism. **Experiment 4:** One hundred and eighteen 90 d pregnant ewes were used to determine the effects of feeding crude glycerin on performance, NEFA concentration and lamb growth. Diets were isonitrogenous and crude glycerin levels were zero or 10%. From the second until the eighth week of lactation DM intake of the ewes and starter of the lambs were measured. There was an increase on ash intake for the glycerin fed ewes. There was a decrease in milk fat percentage. Crude glycerin fed ewes showed a decrease on blood NEFA. The inclusion of 10% of crude glycerin in the diets of sheep during pregnancy and lactation had no detrimental effect on performance of ewes and lambs. Using 10% of crude glycerin decreases the chances of pregnancy toxemia in ewes.

Keywords: Lambs; Byproducts; Glycerol; Biodiesel; Feedlot

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Concentração de ácido graxo não esterificado (AGNE) em ovelhas ao longo dos dias recebendo dietas contendo glicerina bruta.....	109
Figura 2 - Concentração glicose sérica em ovelhas ao longo dos dias recebendo dietas contendo ou não glicerina bruta.....	110
Figura 3 - Concentração de insulina em ovelhas Santa Inês ao longo dos dias recebendo dietas contendo ou não glicerina bruta.....	111
Figura 4 - Correlação entre a concentração sérica de glicose e insulina em ovelhas Santa Inês recebendo dietas contendo ou não glicerina bruta.....	112
Figura 5 - Consumo de concentrado inicial pelos cordeiros e produção de leite das ovelhas.....	114

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição química da glicerina bruta.....	40
Tabela 2 – Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais, % da MS.....	41
Tabela 3 – Peso corporal e desempenho dos cordeiros alimentados com dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta em substituição parcial ao milho.....	47
Tabela 4 – Peso ao abate e características de carcaça de cordeiros alimentados com dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta em substituição parcial ao milho.....	50
Tabela 5 – Características físicas da carne de cordeiros alimentados com dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta em substituição parcial ao milho.....	52
Tabela 6 – Composição de ácidos graxos da gordura da carne dos cordeiros alimentados com dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta em substituição parcial ao milho.....	54
Tabela 7 – Composição química da glicerina bruta.....	65
Tabela 8 – Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais, % da MS.....	65
Tabela 9 – Peso corporal e desempenho dos cordeiros alimentados com dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta em substituição parcial ao milho.....	70
Tabela 10 – Peso ao abate e características de carcaça de cordeiros alimentados com dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta em substituição parcial ao milho.....	72
Tabela 11 – Composição química da glicerina bruta.....	80
Tabela 12 – Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais, % da MS.....	81
Tabela 13 – Consumo e digestibilidade dos nutrientes por borregos alimentados com dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta em substituição parcial ao milho.....	87

Tabela 14 – Concentração dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), nitrogênio amoniacal pH ruminal e glicose nos borregos alimentados com dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta em substituição parcial ao milho.....	89
Tabela 15 – Consumo e balanço de nitrogênio nos borregos alimentados com dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta em substituição parcial ao milho.....	91
Tabela 16 – Composição química da glicerina bruta.....	99
Tabela 17 - Proporção dos ingredientes e composição química das rações experimentais, % na MS.....	100
Tabela 18 – Peso, escore de condição corporal e consumo de ovelhas Santa Inês alimentadas com dietas contendo ou não glicerina bruta.....	105
Tabela 19 – Produção de leite, leite corrigido para gordura (LCG), leite corrigido para gordura e proteína (LCGP) em três horas e composição do leite de ovelhas Santa Inês alimentadas com dietas contendo ou não glicerina bruta.....	107
Tabela 20 - Parâmetros sanguíneos de ovelhas Santa Inês alimentadas com dietas contendo ou não glicerina bruta.	109
Tabela 21 – Peso corporal, ganho de peso médio diário e consumo de concentrado inicial das crias em função da adição de glicerina bruta na dieta das ovelhas.....	113

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos aumentou o interesse em avaliar e utilizar ingredientes alternativos nas dietas de ruminantes, para melhorar os parâmetros de fermentação ruminal, “status” nutricional e, conseqüentemente, o desempenho dos animais. Também existe grande interesse nos alimentos alternativos devido aos elevados preços dos ingredientes tradicionalmente utilizados nas formulações das dietas, como o milho e o farelo de soja.

Teores de inclusão de diversos co-produtos foram avaliados, como a polpa cítrica, casca de soja, caroço de algodão e com a crescente produção do biodiesel tem aumentado o interesse em identificar as vantagens e limites de inclusão da glicerina bruta como ingrediente energético nas dietas de ruminantes.

Para a obtenção do biodiesel a partir do óleo de soja, inicialmente é realizada uma reação envolvendo óleo com um álcool de cadeia curta, metanol ou etanol, e um catalizador, podendo ser hidróxido de sódio, hidróxido de potássio ou cloreto de potássio. Ao final dessa reação são obtidos o biodiesel e a glicerina bruta, sendo a separação feita por gravimetria ou centrifugação (DONKIN; DOANE, 2007).

A glicerina bruta, advinda da produção do biodiesel, tem entre 75 e 85% de glicerol e para alcançar maior grau de pureza, deve ser refinada até atingir 95 a 99% de glicerol, principalmente quando utilizada para o consumo humano (TOOHEY et al., 2003), indústria de cosméticos e farmacêutica (DONKIN; DOANE, 2007). O processo de purificação consiste na retirada das impurezas, como água, catalizadores, ácidos graxos e metanol. Como esse processo de purificação é de elevado custo, existe boa oferta de glicerina bruta, abrindo espaço para utilizá-la na nutrição animal.

O grande interesse na utilização da glicerina bruta em dietas de ruminantes é devido ao elevado teor de glicerol. De acordo com Krehbiel (2008) foi estimado que aproximadamente 13% do glicerol chegue ao intestino delgado, 43% seja absorvido pela parede ruminal, metabolizado no fígado, tendo como destino final a gliconeogênese, pela ação da enzima glicerol quinase, que o converte a glicose, e 44% seja fermentado no rúmen, tendo como principal produto o propionato. Existem estudos em que o glicerol resultou em aumento na produção de ácido láctico e succínico (HOBSON; MANN, 1961; STEWART; BRYANT, 1988).

Algumas pesquisas demonstram que o valor energético do glicerol, principal componente da glicerina bruta, é muito próximo do milho grão (SCHRÖDER; SÜDEKUM, 1999; MACH et al., 2009), e devido as possíveis rotas bioquímicas seguidas pelo glicerol, autores têm demonstrado que tende a melhorar a digestibilidade da MS e MO (RICO et al., 2012) e, por ser precursor de glicose, diminui a chance de distúrbios metabólicos, como cetose e fígado gorduroso, de animais com elevada exigência nutricional (DEFRAIN et al., 2004).

Levando em consideração essas ponderações, se faz necessário novos estudos que visem definir teores ideais de utilização da glicerina bruta em dietas de ruminantes, avaliando o desempenho, fermentação ruminal, digestibilidade de nutrientes e parâmetros sanguíneos.

Referências

- DEFRAIN, J.M.; HIPPER, A.R.; KALSCHEUR, K.F.; JARDON, P.W. Feeding glycerol to transition dairy cows: effects on blood metabolites and lactation performance. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, p. 4195–4206, 2004
- DONKIN, S.S.; DOANE, P. Glycerol as a feed ingredient in dairy rations. In: TRI-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE, 2007, Ohio. **Proceedings...** Ohio, 2007. p. 97-103.
- HOBSON, P.N.; MANN S.O. The isolation of glycerol-fermenting and lipolytic bacteria from the rumen of the sheep. **Journal of Genetic and Microbiology**, London, v.25, p.227-240, 1961.
- KREHBIEL, C.R. Ruminal and physiological metabolism of glycerin. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.86(E-Suppl. 2), p.392. (Abstr.), 2008.
- MACH, N.; BACH, A.; DEVANT, M. Effects of crude glycerin supplementation on performance and meat quality of Holstein bulls fed high-concentrate diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.87, p.632–638, 2009.
- RICO, D.E.; CHUNG, Y.-H.; MARTINEZ, C.M.; CASSIDY, T.W.; HEYLER, K.S.; VARGA, G.A. Effects of partially replacing dietary starch with dry glycerol in a lactating cow diet on ruminal fermentation during continuous culture. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.95, p.3310-3317, 2012.
- SCHRÖDER, A.; SÜDEKUM, K.-H. Glycerol as a by-product of biodiesel production in diets for ruminants. In: INTERNATIONAL RAPESEED CONGRESS, 10., 1999. Canberra. **New horizons or an old crop: proceedings...** Canberra, 1999. (Australia, Paper, 241).

STEWART, C.S.; BRYANT, M.P. The rumen bacteria. In: Hobson, P.N. Ed.). The Rumen Microbial Ecosystem. **Elsevier Applied Science**, London, v.1, n.1, p. 21-75, 1988.

TOOHEY, D.E.; JAYANATH, A.; CRASE, L. Pre-feasibility study into biodiesel opportunity. 31 December. Available at: <http://www.napswq.gov.au/publications/books/pratt-water/working-papers/pubs/biodiesel.pdf>. [Accessed July 02, 2012] 2003.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Origem e caracterização da glicerina bruta

A produção de energia é um dos fatores fundamentais para o desenvolvimento dos países, devido à dependência existente na utilização de tecnologias que sustentam o crescimento socioeconômico. Logo, existe uma preocupação com o fato de que a maior parte da energia é advinda dos combustíveis fósseis, os quais não são renováveis. Com isso, há necessidade de criar alternativas, como por exemplo, o biodiesel, que amplie e diversifique a matriz energética, além de fazê-lo de forma sustentável.

Programas de fomento vêm sendo estabelecidos em diversos países, com a finalidade de identificar e desenvolver fontes alternativas e renováveis de produção energética. O sucesso desses programas é variável, porém essa linha de pesquisa possui um caráter muito importante, motivado principalmente pela sustentabilidade.

Para produzir biodiesel a partir do óleo de soja, é realizada uma reação envolvendo um álcool de cadeia curta (usualmente o metanol, porém pode ser utilizado o etanol) e um catalisador (hidróxido de sódio, hidróxido de potássio ou cloreto de potássio) para que no final da reação seja obtido o biodiesel e a glicerina bruta. A partir disso, o biodiesel é separado da glicerina bruta por gravimetria ou por centrifugação (DONKIN; DOANE, 2007).

A glicerina bruta é formada logo após o processo de transesterificação, que consiste na separação do glicerol e do óleo vegetal ou animal. Devido aos incentivos governamentais que impulsionam a produção deste biocombustível, é importante saber o destino a ser dado à glicerina bruta gerada, sendo que para cada tonelada de biodiesel produzida são gerados cerca de 100 kg do co-produto (BOWKER et al., 2008).

Gonçalves et al. (2009) relataram que não está definida na Política Nacional de Biodiesel uma alternativa sustentável para o destino do volume excedente de produção de glicerina bruta, visto que, os mercados tradicionais que absolvem esse co-produto, como a indústria de cosméticos, resina, farmacêutica, alimentícia e têxtil, possuem uma capacidade limitada de utilização.

A glicerina bruta pode ser classificada de acordo com sua composição, sendo de baixa, média e alta pureza quando o teor de glicerol for de 50 a 70%, de 80 a 99% e acima de 99%, respectivamente (SÜDEKUM, 2008). Na maioria dos casos, a glicerina bruta advinda da produção do biodiesel tem entre 75 e 85% de glicerol e

para alcançar o grau alimentar deve ser refinada até atingir 95 a 99% de pureza, principalmente quando utilizada na indústria de alimentos (TOOHEY et al., 2003). O processo de purificação consiste na retirada das impurezas, como água, catalizadores, ácidos graxos e metanol, sendo esse procedimento de elevado custo.

A glicerina, também definida como glicerol, propano-1,2,3-triol ou 1,2,3-trihidroxipropano, é um líquido viscoso, com sabor adocicado, alta solubilidade em água e quando purificado possui vasta gama de aplicações na indústria de cosméticos, farmacêutica e de alimentos (DONKIN; DOANE, 2007).

Uma limitação no uso da glicerina bruta está relacionada à presença de metanol. O teor encontrado em diferentes amostras de glicerina aponta grande variação, devido ao fato de estar diretamente relacionada à quantidade utilizada nas reações envolvidas na produção de biodiesel e a eficiência na recuperação deste álcool. Essa quantidade não deve extrapolar 0,5%, podendo ser evaporada quando a temperatura é elevada acima de 65°C (DOPPENBERG; VAN DER AAR, 2007).

2.2 Glicerina bruta na nutrição de ruminantes

Atualmente existe grande interesse em utilizar alimentos alternativos ao milho para a formulação de dietas, diminuindo assim os custos de produção (DONKIN; DOANE, 2007). Dentre os resíduos agroindustriais com grande potencial de inclusão na dieta de ruminantes estão os oriundos da produção do biodiesel, fomentados pela obrigatoriedade de inclusão de biodiesel ao diesel de petróleo, resultando em co-produtos que necessitem de destinos ecologicamente corretos e economicamente viáveis (LAGE et al., 2010).

A combinação do aumento da produção de biodiesel, gerando como resíduo grande quantidade de glicerina bruta a baixo custo, somada aos elevados preços do milho, constituem situação favorável para avaliar a glicerina bruta como recurso alimentar alternativo aos ingredientes tradicionalmente utilizados nas dietas (PARSONS et al., 2009). É importante destacar que o aproveitamento de glicerina da gordura animal na nutrição de ruminante, está vetada por questões de sanidade, relacionadas à Encelafopatia Espongiforme Bovina (ANON, 2005)

As características da glicerina bruta aumenta o interesse em utilizá-la na nutrição animal, não apenas pela composição, mas também por ser um ingrediente levemente adocicado, viscoso e, de acordo com Drouillard (2008), pode prevenir a

segregação dos componentes da ração total, tornando a dieta mais homogênea, diminuindo assim a chance de seleção por parte dos animais.

Os pontos negativos na utilização da glicerina bruta estão associados aos elevados teores de minerais e a possível presença de metanol. Doppenberg e Van der Aar (2007) descreveram que o uso de hidróxido de sódio, que possui a função de catalisar a hidrólise, pode se combinar com o ácido clorídrico, aumentando assim o conteúdo total de cloreto de sódio da glicerina bruta, chegando a ultrapassar 6%, e assim, restringir a quantidade de glicerina a ser adicionada nas dietas. Tyson et al. (2004) destacaram que o sal e as impurezas nos óleos reciclados e os reagentes utilizados na transesterificação são os principais problemas da glicerina bruta advinda da produção do biodiesel, pois elas têm a capacidade de limitar o consumo.

Em concentrações elevadas, o metanol pode prejudicar a saúde animal, e também inviabilizar o consumo do produto, carne ou leite (DOPPENBERG; VAN DER AAR, 2007; LAMMERS et al, 2008; SÜDEKUM, 2008). Entretanto, o alto risco à saúde associado ao consumo de pequenas quantidades de metanol, decorrente da inclusão de glicerina bruta na dieta, não é esperado em animais ruminantes, pois o metanol é naturalmente produzido no rúmen como resultado da fermentação da pectina (POL; DEMEYER, 1988). Estes autores trabalharam com infusão contínua de solução de metanol (1 mol/L) a uma taxa de 19 mL/h no rúmen de ovinos e observaram que o metanol foi convertido em metano no rúmen dos animais.

2.3 Fermentação ruminal e digestibilidade dos nutrientes

Nos ruminantes são estimados que aproximadamente 13% do glicerol passe para o intestino delgado, 44% seja fermentado no rúmen e 43% seja absorvido no rúmen (KREHBIEL, 2008). Quando absorvido pelo epitélio ruminal, o glicerol é metabolizado no fígado, tendo como destino final a gliconeogênese, pela ação da enzima glicerol quinase, que o converte a glicose. Quando fermentado no rúmen o glicerol é convertido a propionato, que por sua vez é metabolizado a oxaloacetato no fígado, através do ciclo de Krebs, e por fim utilizado para produção de glicose pela via gliconeogênica. Há relatos de que o glicerol pode resultar na produção de outros metabólitos, como por exemplo, o ácido láctico e succínico (HOBSON; MANN, 1961; STEWART; BRYANT, 1988). Outra possibilidade é o glicerol passar pelo rúmen e ser absorvido no intestino delgado, sendo precursor de glicose. Dessa forma a

glicerina bruta apresenta grande potencial de aplicação como substrato energético para ruminantes.

Com relação ao tempo de colonização e fermentação do glicerol, Lee et al. (2011) em um estudo *in vitro*, concluíram que a fermentação *in vitro* do glicerol é relativamente lenta, porém, o rápido aumento na produção de gás após o “lag time” (tempo de colonização), que teve duração de 7,9 horas, indica que a cinética de fermentação do glicerol pode ser alterada pela adaptação da microbiota ruminal ao glicerol. Ferraro et al. (2009) também notaram elevado tempo de colonização e lenta taxa de produção de gás e concluíram que a cinética de fermentação do glicerol “*in vitro*” depende da adaptação dos microrganismos ruminais e que essa fermentação também pode ser alterada com a presença de outros alimentos.

Kristensen e Raun (2007) mediram a absorção da glicerina e o metabolismo do glicerol no fígado de vacas, que através da cânula ruminal, receberam 925 g/dia de glicerina, contendo 85% de glicerol. Foi recuperado na veia porta, 10% do glicerol administrado, que, nesse caso, foi absorvido pelo rúmen e no fígado convertido em glicose. O glicerol não recuperado na veia porta presumiu-se que foi convertido no rúmen a propionato, contribuindo assim com a gliconeogênese.

Avila et al. (2011) observaram aumento na concentração de propionato e redução linear no acetato e na relação acetato:propionato, *in vitro*, quando substituíram o grão de cevada por glicerina. Drouillard (2008) afirmou que a inclusão de glicerol na dieta de ruminantes modifica a relação acetato:propionato por ser um precursor de propionato no rúmen.

Bergner et al. (1995) reportaram que a substituição do amido de trigo pelo glicerol aumenta a produção de propionato e reduziu a relação acetato:propionato “*in vitro*”. Os autores ainda notaram a ausência de radioatividade no metano, acetato e lactato quando utilizado glicerol marcado com carbono 14, confirmando que, *in vitro*, a maior parte do glicerol é convertida a propionato.

Lee et al. (2011), avaliando a produção de gás, perfil de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e produção de metano *in vitro*, verificaram que, após 24 horas de incubação, houve aumento na proporção de propionato e redução na relação acetato:propionato. Também observaram diminuição na produção total de gases e metano, sem afetar a produção de AGCC. Os autores concluíram que a adição de glicerol na dieta pode aumentar a eficiência no uso da energia dos alimentos pelos ruminantes.

Rico et al. (2012) avaliaram a inclusão de 0, 3, 5 ou 8% glicerol seco em dietas de vacas em lactação e a fermentação “*in vitro*”, e observaram que o aumento nos teores de glicerol na dieta não aumentou a eficiência na síntese de proteína microbiana. Também observaram que a concentração de N-amoniaco aumentou apenas quando incluíram 8% de glicerol nas dietas.

Alguns trabalhos relataram aumento na produção de ácido butírico quando a glicerina bruta foi adicionada às dietas (RÉMOND et al., 1993; SCHRÖDER; SÜDEKUM, 1999; TRABUE et al., 2007). Partindo desse princípio, Terré et al. (2011) avaliaram o desenvolvimento das papilas ruminais, visto que o butirato é o ácido graxo de cadeia curta com maior capacidade para estimular o desenvolvimento da mucosa ruminal, inibindo a apoptose das células da mucosa (MENTSCHHEL et al., 2001). Porém, os autores verificaram que não houve influência da adição de glicerina bruta no desenvolvimento das papilas ruminais.

A glicerina bruta tem sido associada à diminuição na biohidrogenação ruminal. Edwards et al. (2012) avaliaram o efeito do glicerol sob a lipólise ruminal “*in vitro*”, adicionando glicerol em uma cultura mista de bactérias ruminais e incubando em ambiente anaeróbico por 48 horas e verificaram que o uso de 6 ou 20% de glicerol gerou redução na lipólise ruminal acima de 80% em relação ao tratamento controle. Os autores ponderaram que apesar de obter tais resultados com o estudo realizado não foi possível estabelecer qual o mecanismo de ação do glicerol na inibição da lipólise ruminal.

Krueger et al. (2010) suplementaram culturas mistas de microrganismos ruminais com 2 ou 20% de glicerol e observaram redução no acúmulo de ácidos graxos não esterificados de 48 e 77%, respectivamente, indicando menor taxa de lipólise quando o glicerol foi adicionado.

Por outro lado, alguns autores destacam que a presença de glicerina na dieta pode ter alguns impactos negativos, do ponto de vista de fermentação ruminal. Roger et al. (1992) relataram que a glicerina pode ter efeito negativo na atividade celulolítica no rúmen. Foi observada redução na degradação de celulose pelas bactérias celulolíticas na ordem de 0,5% quando utilizado 5% de glicerina na dieta. Krehbiel (2008) descreveu que as diferenças na digestibilidade da fibra podem ser atribuídas à necessidade de adaptação dos microrganismos a glicerina ao longo do tempo. Sendo assim, se fazem necessários estudos sob como proceder à adaptação dos animais ao recebimento da dieta contendo glicerina bruta.

Por outro lado, Rico et al. (2012) ao avaliarem a inclusão de 0, 3, 5 ou 8% de glicerol seco em dietas de vacas em lactação e a fermentação “in vitro”, verificaram aumento na digestibilidade da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO) e fibra em detergente neutro (FDN).

Os resultados referentes à digestibilidade de dietas contendo glicerina ainda são escassos, tornando difícil aferir com precisão o real efeito causado por esse co-produto na fermentação e digestão de nutrientes.

2.4 Desempenho de animais em crescimento

Com relação aos teores de glicerina bruta a ser utilizada em dietas de ruminantes ainda existem muitas controvérsias, devido aos resultados divergentes e principalmente pelo teor de glicerol presente nas glicerinas utilizadas nos experimentos. Donkin et al. (2009) afirmaram que resultados obtidos com o uso de glicerina purificada, a qual possui maior teor de glicerol, devem ser analisados com cautela e não extrapolar os resultados quando for utilizada a glicerina bruta.

Südekum et al. (2008), salientaram que glicerina bruta pode substituir carboidratos rapidamente fermentáveis em dietas de ruminantes em até 10% da matéria seca, sem impacto negativo no consumo de água, ingestão de alimentos, degradação ruminal e digestibilidade de nutrientes. Schröder e Südekum (1999) observaram aumento no consumo de água quando a glicerina foi incluída na dieta, provavelmente explicado pelo aumento no teor de cloreto de sódio presente na glicerina.

Parsons et al. (2009) avaliaram o desempenho de novilhos confinados recebendo dieta controle, contendo 94% de concentrado e feno de alfafa, e dietas contendo 2, 4, 8, 12 ou 16% de glicerina bruta na matéria seca (MS). Os autores verificaram efeito quadrático para ganho médio diário (1,19; 1,34; 1,29; 1,25; 1,17; 1,03 kg/dia) assim como na ingestão de matéria seca (8,84; 8,88; 8,66; 8,61; 8,40; 7,80 kg/dia) e eficiência alimentar (0,14; 0,15; 0,15; 0,15; 0,14; 0,13), para os teores de 0, 2, 4, 8, 12 ou 16%, respectivamente.

Mach et al. (2009) utilizaram 48 touros os quais foram alimentados com dietas contendo 0, 4, 8 ou 12% de glicerina (85,7% de glicerol) na MS, por um período de 21 dias de adaptação, e 91 dias de experimento. Não houve diferença no consumo de matéria seca ($8,27 \pm 0,32$ kg MS/dia), ganho médio diário ($1,36 \pm 0,09$ kg/dia) e

eficiência alimentar ($0,17 \pm 0,01$ kg/dia) entre os tratamentos. Os autores observaram que a glicerina bruta pode ser utilizada como ingrediente energético das rações de forma eficiente em substituição aos cereais nas dietas de bovinos confinados e a estimativa de energia metabolizável da glicerina é de 3,47 Mcal/kg de MS.

Com relação à nutrição de ovinos, Gomes et al. (2011) utilizaram 27 cordeiros da raça Santa Inês, com aproximadamente 90 dias de idade e avaliaram o desempenho dos animais recebendo dietas com 40% de feno de aveia, utilizando tratamento controle e a inclusão de 15 ou 30% de glicerina bruta (83,2% de glicerol). Os autores concluíram que a inclusão de valores de até 30% de glicerina na dieta total não gerou impacto negativo sobre a saúde animal, consumo, desempenho e a qualidade da carne ovina. Salientaram que a adição de glicerina gerou redução, considerável, na geração de pó, podendo esse ser um efeito benéfico da utilização desse co-produto em rações com elevado teor de matéria seca.

Terré et al. (2011) utilizaram 102 cordeiros que foram suplementados, do desmame ao abate, com glicerina bruta (0, 5 e 10%) e concluíram que a glicerina pode ser incluída na dieta de cordeiros até o teor de 10% sem prejudicar o desempenho, a ingestão, ou alterar a composição dos ácidos graxos da carne. Também não houve influencia da adição de glicerina nos parâmetros sanguíneos, como insulina sérica e concentração de glicose. Entretanto, os cordeiros utilizados eram jovens, $45 \pm 7,9$ dias de idade e foram abatidos aos $70 \pm 10,9$ dias de idade, caracterizando um período muito curto de confinamento e acesso a ração contendo glicerina.

Musselman et al. (2008) avaliaram a inclusão de 0, 15, 30 e 45 % de glicerina, com aproximadamente 90% de glicerol, na nutrição de cordeiros recebendo dietas com alta proporção de concentrado e verificaram que os animais dos tratamentos controle e 15% de glicerina bruta tiveram maior ganho de peso (0,32; 0,25; 0,21; 0,15 kg/dia) e menor idade ao abate (82,7; 82,5; 110,8; 145,7 dias, respectivamente) em relação ao tratamento 30% e 45%. Os autores sugeriram que glicerina bruta com 90% de glicerol pode ser incluída na ração de cordeiros confinados em até 15% da MS.

Lage et al. (2010) avaliaram o desempenho de 35 cordeiros da raça Santa Inês, recém desmamados, com 90 dias de idade, os quais receberam dieta contendo 0, 3, 6, 9 e 12% de glicerina bruta (36,2% de glicerol) na MS, em substituição ao

milho, sendo a fração volumosa da dieta (30%) composta por silagem de milho. Os autores relataram redução linear no consumo de matéria seca (1,12; 1,12; 0,90; 0,94; 0,78 kg dia⁻¹), efeito quadrático sobre a conversão alimentar (4,24; 3,72; 3,51; 3,70; 4,19, respectivamente), concluindo que a inclusão de até 6% de glicerina bruta melhora o desempenho e reduz o custo do ganho de carcaça.

Gunn et al. (2010), ao avaliarem a adição de glicerina bruta (87,5% de glicerol), sendo os teores de glicerina utilizados 0, 5, 10, 15 ou 20% de inclusão, em dietas contendo 15% de feno, sobre o desempenho e as características de carcaça de 30 cordeiros, observaram que não houve diferença entre os tratamentos com relação ao ganho médio diário (0,23; 0,20; 0,28; 0,29; 0,23 kg) peso final (56,20; 57,60; 58,1; 57,50; 57,10 kg), e consumo de matéria seca (1,43; 1,41; 1,59; 1,57; 1,55 kg, respectivamente), bem como para as características de carcaça avaliadas. Concluíram que a adição de glicerina bruta nas dietas de terminação de cordeiros não resulta em impacto negativo tanto no desempenho quando nas características de carcaça.

2.5 Desempenho de animais em lactação

A inclusão de glicerina também ganha espaço na nutrição de vacas leiteiras, principalmente durante o período de transição e no tratamento de cetose. Hippen et al. (2008) relataram que no tratamento casos severos de cetose em vacas leiteiras, a administração de doses alternadas de glicerol e de propilenoglicol tem apresentado bons resultados.

Donkin e Doane (2007) relataram que a adição de glicerol na dieta de vacas leiteiras causou efeito negativo no consumo de matéria seca na primeira semana. Esse efeito não foi observado nas semanas seguintes. Segundo os autores, o aumento no consumo de matéria seca após os sete primeiros dias sugere a necessidade de realizar um período de adaptação dos animais às dietas contendo glicerol.

DeFrain et al. (2004) suplementaram durante o período de transição, 21 vacas da raça Holandês múltiparas e 9 primíparas com 0,86 kg/dia de amido de milho, 0,43 kg/dia de amido de milho + 0,43 kg/dia de glicerol ou 0,86 kg/dia de glicerol, constituindo tratamento controle, LG e HG, respectivamente. Os autores relataram que não houve diferença entre o peso corporal e o escore de condição corporal das

vacas 21 dias após o parto. No período pré-parto houve redução de aproximadamente 17% no consumo de matéria seca para as vacas suplementadas com glicerol, entretanto, não houve diferença entre a ingestão de matéria seca no período pós-parto.

Wilbert et al. (2013), ao trabalharem com vacas no terço médio de lactação, incluíram 4, 8 ou 12% de glicerina bruta e verificaram que não houve diferença na produção de leite, gordura, lactose e sólidos totais, observando apenas alteração na produção de proteína do leite. Os autores observaram que a concentração de energia líquida para lactação da glicerina bruta (81,4% de glicerol) foi similar à densidade energética do grão de milho.

Donkin et al. (2009) avaliaram a inclusão de 0, 3, 10 ou 15% de glicerol em dietas de vacas em lactação e observaram ausência de efeito sob a ingestão de matéria seca (23,8; 24,6; 24,8; 24,0 kg/dia) e produção de leite (36,3; 37,2; 37,9; 36,2 kg/dia, respectivamente). Os autores relataram apenas interação entre tratamento e semana para ingestão de matéria seca, sendo observada diminuição na ingestão apenas na primeira semana, quando foi incluído teor superior a 10% de glicerol na dieta.

Wang et al. (2009), após avaliarem o glicerol como suplemento para vacas no início da lactação, concluíram que a composição do leite e o consumo não foram afetados, porém a suplementação das vacas reduziu a intensidade do balanço energético negativo, por ter havido maior concentração de glicose sanguínea e menor de beta-hidroxibutirato (BHB) e AGNE, assim como menor concentração de cetona na urina, o que sugere um aumento na disponibilidade de energia líquida.

DeFrain et al. (2004) concluíram que o teor de ácidos graxos não esterificados (AGNE) foi menor para o tratamento com o maior teor de glicerol em relação ao demais apenas no sétimo dia de lactação e que nos demais não foi verificada diferença entre os tratamentos. Os autores observaram que alimentar vacas no período pós-parto com elevados teores de glicerol diminui a concentração de glicose e aumenta beta-hidroxibutirato do sétimo ao vigésimo primeiro dia de lactação, tornando os animais mais susceptíveis a cetose. Osborne et al. (2009) concluíram que a inclusão de glicerol ou óleo de soja na água de vacas durante 7 dias pré e pós-parto não influenciou a concentração de AGNE circulante

Referências

ANON. 2005. Biodiesel from alternative feedstocks. February 22, 2007. Available at: <http://www.biodiesel.org.au/forums/testing2005detai.htm>. Accessed June 12, 2012

AVILA, J.S.; CHAVES, A.V.; HERNANDEZ-CALVA, M. BEAUCHEMIN, K.A.; MCGINN, S.M.; WANG, Y.; HARSTAD, O.M.; MCALLISTER, T.A. Effects of replacing barley grain in feedlot diets with increasing levels of glycerol on in vitro fermentation and methane production. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.166/167, p.265-268, 2011.

BERGNER, H.; KIJORA, C.; CERESNAKOVA, Z.; SZAKACS, J. In vitro studies on glycerol transformation by rumen microorganisms. **Arch Tierernahr**, Berlin, v.48, p.245–256, 1995.

BOWKER, M.; DAVIES, P.R.; AL-MAZROAI, L.S. Photocatalytic Reforming of Glycerol over Gold and Palladium as an Alternative Fuel Source. **Journal Catalysis Letters**, Cham, v.128, p.253-255, 2008.

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

DONKIN, S.S.; DOANE, P. Glycerol as a feed ingredient in dairy rations. (Ed.0, 2007. TRI-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE, 2007.Ohio. **Proceedings...** Ohio, 2007. p. 97-103.

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

DOPPENBERG, J.; VAN DER AAR, P. The nutritional value of biodiesel by-products pt2: Glycerine. **Feed Business Asia**, Shanghai, v.1, n.1, p.42-43, 2007.

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

EDWARDS, H.D.; ANDERSON, R.C.; MILLER, R.K.; TAYLOR, T.M.; HARDIN, M.D.; SMITH, S.B.; KRUEGER, N.A.; NISBET, D.J. Glycerol inhibition of ruminal lipolysis in vitro. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.95, p.51176-5181, 2012.

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

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

GONÇALVES, B.R.L.; PEREZ, L.; ÂNGELO A.C.D. Glicerol: uma inovadora fonte de energia proveniente da produção de biodiesel. 22 May. Available at: <http://www.advancesincleanerproduction.net/second/files/sessoes/5a/3/B.%20R.%20L.%20Gon%C3%A7alves%20-%20Resumo%20Exp.pdf>. [Accessed July 01, 2012], 2009.

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

HIPPEN, A.R.; DEFRAIN, F.M.; LINKE, P.L. Glycerol and other energy sources for metabolism and production of transition dairy cows. 2008. Florida Ruminant Nutrition Symposium. 2008. Gainesville. **Proceedings...** Florida, USA, 2008p.1 – 17.

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

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

KRISTENSEN, N.B.; RAUN, B.M.L. Ruminal fermentation, portal absorption, and hepatic metabolism of glycerol infused into the rumen of lactating dairy cows.. In: Wageningen Academic Publishers, (Ed.). 2007. Energy and Protein Metabolism and Nutrition – INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ENERGY AND PROTEIN METABOLISM AND NUTRITION, 2007. Wageningen. **Proceedings...** Netherlands, 2007. p.355-356.

KRUEGER, N.A.; ANDERSON, R.C.; TEDESCHI, L.O.; CALLAWAY, T.R.; EDRINGTON, T.S.; NISBET, D.J. Evaluation of feeding glycerol on free-fatty acid production and fermentation kinetics of mixed ruminal microbes in vitro. **Bioresource Technology**, Amsterdam, v.101, p.8469–8472, 2010.

LAGE, J.F.; PAULINO, P.V. PEREIRA, L.G.R.; VALADARES FILHO, S.C.; OLIVEIRA, A.S.; DETMANN, E.; SOUZA, N.K.P.; LIMA, L.C.M. Glicerina bruta na dieta de cordeiros terminados em confinamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.45, p. 1012-1020, 2010.

LAMMERS, P.J.; KERR, B.J.; WEBER, T.E.; BREGENDHAL, K.; LONERGAN, S.M.; PRUSA, K.J.; AHN, D.U.; STOFFREGEN, W.C.; DOZIER III, W.A.; HONEYMAN, M.S. Growth performance, carcass characteristics, meat quality, and tissue histology of growing pigs fed crude glycerin-supplemented diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.86, p.2962–2970, 2008.

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

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

MENTSCHHEL, J.; LEISER, R.; MULLING, C.; PFARRER, C.; CLAUS, R. Butyric acid stimulates rumen mucosa development in the calf mainly by a reduction of apoptosis. **Arch Tierernahr**, Berlin, v.55, p.85–102, 2001.

MUSSELMAN, A. F.; VAN EMON, M.L.; GUNN, P.J.; RUSK, C.P.; NEARY, M.K.; LEMENAGER, R.P.; LAKE, S.L. Effects of crude glycerin on feedlot performance and carcass characteristics of market lambs. **American Society of Animal Science**. West. Sect. Proc. v.59, p.353–355, 2008.

OSBORNE, V.R.; ODONGO, N.E.; CANT, J.P.; SWANSON, K.C.; MCBRIDE, B.W. Effects of supplementing glycerol and soybeans oil in drinking water on feed and water intake, energy balance, and production performance of periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.92, p.698-707, 2009

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

POL, A.; DEMEYER, D.I. Fermentation of methanol in the sheep rumen. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.54, n.3, p.832–834, 1988.

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

RICO, D.E.; CHUNG, Y.-H.; MARTINEZ, C.M.; CASSIDY, T.W.; HEYLER, K.S.; VARGA, G.A. Effects of partially replacing dietary starch with dry glycerol in a lactating cow diet on ruminal fermentation during continuous culture. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.95, p.3310-3317, 2012.

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

SCHÖDER, A.; SÜDEKUM, K.H. Glycerol as a by-product of biodiesel production in diets for ruminants. In: INTERNATIONAL RAPESEED, 10., 1999. Canberra, Australia **Proceeding...** Canberra, Australia Sept. 1999 Available at: <http://www.regional.org.au/au/gcirc/1/241.htm#TopOfPage>. [Accessed June 11, 2013]

STEWART, C.S.; BRYANT, M.P. The rumen bacteria. In: HOBSON, P.N. (Ed.). **The Rumen Microbial Ecosystem**. London: Elsevier Applied Science, 1988. p. 21-75.

SÜDEKUM, K.H. Co-products from biodiesel productin. In: GARNSWORTHY, P.C.; WISEMAN, J. (Ed.). **Recent Advances in animal nutrition**. Nottingham, England: Nottingham University Press, 2008 2008 p. 210-219.

TERRÉ, M.; NUDA, A.; CASADO, P.; BACH, A. The use of glycerin in rations for light lamb during the fattening period. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v.164, p.262-267, 2011.

TOOHEY, D.E.; JAYANATH, A.; CRASE, L. Pre-feasibility study into biodiesel opportunity. 31 December. Available at: [http://www.napswq.gov.au/publications/books/pratt-water/working-papers/pubs/biodiesel .pdf](http://www.napswq.gov.au/publications/books/pratt-water/working-papers/pubs/biodiesel.pdf). [Accessed July 02, 2012], 2003.

TRABUE, S.; SCOGGIN, K.; TJANDRAKUSUMA, S.; RASMUSSEN, M.S.; REILLY, P.J. Ruminal fermentation of propylene glycol and glycerol. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.55, p.7043-7051, 2007.

TYSON, K.S.; BOZELL, J.; WALLACE, R. **Biomass oil analysis: research needs and recommendations**. Mar. 22, 2007. Available at: <http://www.nrel.gov/docs/fy04osti/34796.pdf> [Accessed June 15, 2012]. 2004.

WANG, C.; LIU, Q.; YANG, W.Z.; HUO, W.J.; DONG, K.H.; HUANG, Y.X.; YANG, X.M.; HE, D.C. Effects of glycerol on lactation performance, energy balance and metabolites in early lactation Holstein dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.151, p.12-20, 2009.

WILBERT, C.A.; PRATES, E.R.; BARCELLOS, J.O.J.; SCHAFHÄUSER, J. Crude glycerin as an alternative energy feedstuff for dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 183 p.116-123, 2013.

3 SUBSTITUIÇÃO PARCIAL DO MILHO PELA GLICERINA BRUTA: DESEMPENHO, ATIVIDADE DE ENZIMAS HEPÁTICAS, CARACTERÍSTICAS DA CARÇAÇA E DA CARNE DE CORDEIROS SANTA INÊS

Resumo

Quarenta cordeiros, machos não castrados, da raça Santa Inês, foram distribuídos em blocos completos casualizados, definidos pelo peso inicial e idade, para avaliar os efeitos da inclusão de glicerina bruta em substituição parcial ao milho em rações com alta proporção de concentrado, sobre o desempenho, características de carcaça e da carne, e concentração de enzimas hepáticas. As rações experimentais foram compostas por 90% de concentrado e 10% de volumoso, isonitrogenadas ($17,6 \pm 0,2\%$ de PB, % MS), sendo que o ajuste proteico foi realizado pela inclusão de ureia e farelo de soja. Os teores de inclusão de glicerina bruta foram: 0, 5, 10 ou 15% na MS, que corresponderam aos tratamentos G0, G5, G10 e G15, respectivamente. A adição crescente de glicerina bruta causou efeito quadrático no consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria seca em percentagem do peso corporal (CMSPC), consumo de fibra em detergente neutro (CFDN), consumo de proteína bruta (CPB), ganho médio diário (GMD) e peso final. Não houve efeito da inclusão de glicerina bruta na EA. Não houve interação entre tratamento e período para as variáveis estudadas, porém houve efeito de período para CMS, CMSPC, consumo de fibra em detergente neutro CFDN, CPB, e eficiência alimentar (EA). Não houve alteração sobre a atividade das enzimas aspartato-aminotransferase (AST) e gama glutamil-transferase (GGT). A inclusão crescente de glicerina causou efeito quadrático para peso corporal ao abate (PCA), peso da carcaça quente (PCQ) e peso da carcaça fria (PCF). As características da carne não foram afetadas pelos tratamentos. Foi observado efeito quadrático para os ácidos graxos mirístico, palmítico, palmitoleico, linoleico e rumênico. Não houve efeito da adição de glicerina bruta na porcentagem de ácidos graxos de cadeia curta, média, longa, ácidos graxos saturados, insaturados, monoinsaturados e poli-insaturados. A glicerina bruta pode substituir o milho em até 10% da MS em dietas com alto teor de concentrado.

Palavras-chave: Ovinos; Co-produto; Glicerol; Biodiesel; Confinamento

Abstract

Forty Santa Inês ram lambs were assigned to a randomized complete block design, defined by initial BW and age, were used to determine the effects of partial replacement of corn by crude glycerin on growth, hepatic enzymes, carcass and meat characteristics of lambs fed high-concentrate diets. Lambs were fed a TMR composed of 90% concentrate and 10% coastcross hay. The diets were isonitrogenous ($17.6 \pm 0.2\%$ CP, DM basis) and the protein was adjusted by increasing urea and soybean meal. Increasing levels of crude glycerin (89.7% glycerol, DM basis) were: 0, 5, 10 or 15% corresponding to the experimental diets G0, G5, G10 and G15, respectively, and were analyzed: average daily gain, DM

intake, feed efficiency, activity of hepatic enzymes (aspartate aminotransferase-AST and gamma-glutamyl transfease-gamma-GT) carcass characteristics (dressing percentage, longissimus muscle area, backfat thickness and body wall thickness) and meat quality (color, shear force, cooking weight loss and fatty acid profile). There was no treatment and period interaction, but there was period effect for DMI (kg/d and %BW), NDFI, CPI and feed efficiency. There was quadratic effect for DMI (kg/d, %BW, g/kg BW^{0.75}), NDFI, CPI, ADG and final weight. Crude glycerin did not affect G:F and AST activity. There was a quadratic effect for slaughter BW and dressing percentage, but no difference on longissimus muscle area, backfat thickness and body wall thickness. There was quadratic effect for myristic, palmitic, palmitoleic, linoleic and rumenic acid, but unaffected percentage of short, medium and long chain fatty acids, saturated, unsaturated, MUFA and PUFA. Crude glycerin is a good substitute of corn in high-concentrate diets, improving performance and carcass characteristics when included until 10% of the diet DM.

Keywords: Sheep; Byproducts; Glycerol; Biodiesel; Feedlot

3.1 Introdução

A glicerina é um co-produto da produção do biodiesel, sua formação se dá através do processo de transesterificação, que consiste na separação da glicerina do óleo vegetal ou animal. Devido aos incentivos governamentais que impulsionam a produção deste biocombustível, é importante saber o destino a ser dado à glicerina bruta gerada, sendo que para cada tonelada de biodiesel produzida são gerados cerca de 100 kg do co-produto (BOWKER et al., 2008).

O potencial uso da glicerina nas dietas de ruminante se dá por duas razões: pelas características do co-produto, descritas por Gomes et al. (2011) como sendo doce, com leves traços salgados, conferindo às dietas boa aceitabilidade por parte dos animais e a glicerina bruta pode também prevenir a segregação de componentes da dieta durante a mistura, tornando-a mais homogênea (Drouillard, 2008). Outra vantagem é que a glicerina bruta é um substrato gliconeogênico. o glicerol pode ter três diferentes destinos ao entrar no rúmen: passar para o intestino delgado, ser absorvida pela parede ruminal e convertido à glicose no fígado ou fermentado a propionato, resultando em glicose sanguínea (Krehbiel, 2008).

A glicerina bruta (86,0% de glicerol) caracteriza-se como um ingrediente energético, com a energia metabolizável (EM) estimada em 3,47 Mcal/kg de MS (Mach et al. 2009), sendo superior ao milho moído, que apresenta EM de 3,2 Mcal/kg de MS.

Schoonmaker et al. (2004) acrescentaram que a inclusão de glicerina bruta em dietas de ruminantes poderia aumentar a deposição de gordura, visto que a glicose gerada pode ser utilizada como fonte de carbono para a síntese de ácidos graxos. Portanto, a glicerina bruta demonstra ser um ingrediente energético a ser adicionado nas rações de ruminantes, sendo um potencial substituto parcial dos cereais, como o milho.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a substituição parcial do milho pela glicerina bruta em dietas de cordeiros em terminação, sobre desempenho dos animais, parâmetros enzimáticos, características da carcaça e da carne e o perfil de ácidos graxos da carne.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Animais e instalações experimentais

O presente estudo foi conduzido nas instalações do Sistema Intensivo de Produção de Ovinos e Caprinos (SIPOC) do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, localizada em Piracicaba - SP (22° 42' 24" S e 47° 37' 53" O).

Foram utilizados 40 cordeiros machos não castrados (peso inicial $24,4 \pm 1,2$ kg e $97 \pm 1,4$ dias de idade), da raça Santa Inês, confinados em baias individuais (4,20 x 1,30 m) cobertas, com piso de concreto, providos de bebedouro e cocho para fornecimento de ração e suplemento mineral.

No dia anterior ao início do experimento os cordeiros foram everminados com moxidectina 1% (Cydectin, Fort Dodge Saúde Animal, Campinas, São Paulo, Brasil) na dosagem de 1 mL/50 kg de peso corporal (PC) e receberam uma aplicação de vitamina ADE (A-D-E, Pfizer, Guarulhos, São Paulo, Brasil)

3.2.2 Delineamento experimental, tratamentos e manejo alimentar

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos completos casualizados, com quatro tratamentos e dez repetições. Os animais foram agrupados por idade e os blocos definidos pelo peso no início do experimento.

A glicerina bruta utilizada foi obtida da produção de biodiesel a partir do óleo de soja (Caramuru Alimentos S.A. Itumbiara, GO, Brasil) e continha 80,7% de glicerol (Tabela 1). As dietas experimentais foram definidas pela substituição parcial do milho pela glicerina bruta e formuladas através do programa “Small Ruminant Nutrition System 6.0”. As dietas foram constituídas de 10% de volumoso (feno de “coastcross”) e 90% de concentrado na matéria seca e foram formuladas para serem isonitrogenadas, sendo que a correção dos valores de proteína bruta à medida que foi adicionado glicerina, foi realizada com aumento nos teores de ureia e farelo de soja. A inclusão de glicerina bruta na ração foi na proporção de 0, 5, 10 e 15% na MS, correspondendo aos tratamentos G0, G5, G10 e G15, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 1 – Composição química da glicerina bruta

Variáveis	% na MS
MS, % da matéria natural (MN)	89,8
Glicerol	80,7
Extrato etéreo	0,6
Sódio	2,6
Metanol	3.936,15 mg/L

O experimento teve duração de 56 dias, sendo dividido em dois períodos de 28 dias. Os cordeiros foram pesados após jejum alimentar de 14 horas, nos dias 0, 28 e 56.

O milho e o feno foram moídos utilizando triturador (Nogueira® DPM – 4, Itapira, São Paulo, Brasil), com peneira de 10 mm. Posteriormente foram misturados ao farelo de soja, glicerina bruta, ureia, calcário, cloreto de amônio, mistura mineral e monensina sódica (Elanco do Brasil, São Paulo, Brasil) utilizando-se misturador horizontal com capacidade para 500 kg (Lucato®, Limeira, Brasil). A monensina sódica foi adicionada na proporção de 25 mg/kg de matéria natural. A cada partida de ração uma amostra foi colhida, conservada a -18 °C para posterior análise.

Tabela 2 – Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais, % da MS

	Dietas ¹			
	G0	G5	G10	G15
Ingredientes				
Feno de “coastcross”	10,0	10,0	10,0	10,0
Farelo de soja	15,5	15,8	16,0	16,3
Glicerina bruta	0,0	5,0	10,0	15,0
Milho moído	70,3	64,9	59,6	54,2
Ureia	0,5	0,6	0,7	0,8
Calcário	1,7	1,7	1,7	1,7
Sal mineral ²	1,5	1,5	1,5	1,5
Cloreto de amônio	0,5	0,5	0,5	0,5
Composição química				
Matéria seca (% da MN)	88,2	88,5	87,2	87,1
Proteína bruta	17,1	17,6	18,2	17,5
Fibra em detergente neutro	23,9	23,8	21,7	21,5

¹G0 = dieta sem adição de glicerina bruta; G5 = adição de 5% de glicerina bruta; G10 = adição de 10% de glicerina bruta; G15 = adição de 15% de glicerina bruta.

²Composição: Ca 13,4%, P 7,5%, Mg 1%, S 7%, Cl 21,8%, Na 14,5%, Mn 1100 mg/kg, Fe 500 mg/kg, Zn 4600 mg/kg, Cu 300 mg/kg, Co 40 mg/kg, I 55 mg/kg, Se 30 mg/kg.

A alimentação foi fornecida três vezes/semana, *ad libitum*, e uma vez por semana as sobras de cada unidade experimental foram pesadas para a determinação do consumo diário de MS (CMS). As sobras foram compostas por tratamento, amostradas (10%) e conservadas a -18°C.

Foi calculada a eficiência alimentar (EA) tomando como base o consumo médio diário de MS e o ganho de peso médio diário de cada período.

As amostras das rações ofertadas e as sobras foram processadas em moinho tipo Wiley (Marconi, Piracicaba, Brasil) com peneiras com crivos de 1,0 mm e analisadas para determinação de matéria seca (MS) por meio de secagem das amostras em estufa a 105° C por 24 horas, nitrogênio total utilizando um aparelho Leco FP528 (Leco Corporation, St. Joseph, MI), conforme a AOAC (1997), e fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) conforme Van Soest, Robertson e Lewis (1991), utilizando α -amilase ternoestável e sulfito de sódio, em aparelho Ankom 2000 (Ankom Tech. Corp., Fairport, NY). As análises foram realizadas no Laboratório de

Nutrição e Reprodução e Animal (LNRA) e no Laboratório de Bromatologia, ambos do Departamento de Zootecnia da ESALQ – USP.

3.2.3 Parâmetros enzimáticos

Foram realizadas colheitas de sangue nos dias 0, 28 e 56, duas horas após o fornecimento da ração, por punção na veia jugular, em tubos tipo Vacutainer® com gel separador inerte para soro. Logo após a colheita, os tubos foram centrifugados a 4.000 x g a 4°C por 15 minutos e as alíquotas do soro obtidas foram colocadas em dois microtubos plásticos com capacidade para 1,5 mL, armazenados a -18°C para posterior determinação da atividade das enzimas.

A concentração sérica das enzimas aspartato-aminotransferase (AST) e gama glutamil-transferase (gama GT) foram determinadas segundo a metodologia descrita por Schmid e Fostner (1986), em analisador bioquímico Randox, marca AMS, utilizando-se kit comercial da marca Biosystems, junto a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/USP) em São Paulo, laboratório de pesquisa do departamento de clínica médica.

3.2.4 Abate dos animais e características da carcaça

Ao final dos 56 dias de confinamento todos os animais foram abatidos, após jejum de 14 horas. Posteriormente a evisceração, esfolagem e toalete, as carcaças foram pesadas (PCQ), e resfriadas a 4°C em câmara de refrigeração por 24 horas, quando foram novamente pesadas para obtenção do peso de carcaça fria (PCF). O rendimento de carcaça quente (RCQ), rendimento de carcaça fria (RCF) e perda por resfriamento (PR) foram calculados pelas fórmulas: $RCQ = (PCQ/PCA) \times 100$; $RCF = (PCF/PCA) \times 100$; $PR = [(PCQ - PCF)/PCQ] \times 100$, sendo que PCA = peso corporal ao abate.

A medida da espessura de gordura subcutânea (EGS) foi realizada, utilizando-se paquímetro digital (Battery, modelo SR44) graduado em mm, após 24 horas de resfriamento na secção transversal do músculo *Longissimus dorsi* entre a 12ª e 13ª vértebras torácicas. A face exposta do músculo *Longissimus dorsi* foi desenhada em papel vegetal e posteriormente sua área foi mensurada através de um planímetro graduado em cm² para obtenção da área de olho de lombo (AOL). Foi calculada a

média aritmética da EGS e AOL de cada carcaça, a partir dos valores mensurados dos lados direito e esquerdo de cada animal.

Na mesma secção transversal entre a 12° e 13° vértebras torácicas foi mensurada a espessura de parede corporal, medida 12,5 cm lateralmente da linha média da coluna vertebral (NOTTER; GREINER; WAHLBERG, 2004), utilizando um paquímetro digital graduado em mm. Para análise estatística foi utilizada a média aritmética das duas mensurações obtidas de cada carcaça, sendo uma do lado esquerdo e a outra do direito.

3.2.5 Características da carne

3.2.5.1 Perfil de ácidos graxos da carne

Após as carcaças ficarem 24 horas na câmara de resfriamento, uma amostra do músculo *Longissimus dorsi* de aproximadamente 15 cm foi retirada da meia carcaça direita de cada animal, armazenada a -18°C, para posterior determinação do perfil de ácidos graxos.

De cada amostra foram utilizadas aproximadamente 2 gramas de carne da parte central do músculo, que após o descongelamento (4°C por 12 horas), foram homogeneizadas em 20 mL de solução de clorofórmio e metanol (2:1), realizada com homogeneizador, desintegrador e emulsificador tipo Turrax (Marconi, MA102/PLUS). Em seguida, o material foi homogeneizado por 20 minutos a 2400 rpm e a porção líquida resultante foi transferida utilizando uma seringa de vidro para tubo Falcon de 50 mL. Foram adicionados 4,4 mL de solução de NaCl (1,5%) ao líquido e novamente centrifugado por 20 minutos a 2400 rpm. Nesse processo ocorre separação da mistura em duas fases, contendo uma camada de NaCl entre elas. Novamente com a seringa de vidro, após passar a camada de NaCl, foi retirada a fase inferior, onde se encontram os compostos lipídicos diluídos em clorofórmio, e transferida para um tubo com tampa. Na sequência, o solvente foi evaporado com o uso de nitrogênio gasoso, restando apenas a gordura (FOLCH; LEES; STANLEY, 1957).

Uma alíquota do extrato obtido foi metilada em duas etapas com 2mL de 0,5M de metóxido de sódio (10 minutos a 50°C), seguido da adição de HCl metanólico (10

minutos a 80°C), conforme Kramer et al. (1997) e armazenada a -18°C em frascos âmbar de 1,5 mL contendo nitrogênio para evitar oxidação.

Para determinação dos ácidos graxos foi utilizado um cromatógrafo Agilent Technologies 7890A, equipado com detector de ionização de chama (7683B) e coluna capilar de sílica fundida de 100 m de comprimento e 250 µm de diâmetro, contendo 0,20 µm de cianopropil policiloxano (J e W 112-88A7, Agilent Technologies). O tempo total de análise cromatográfica de cada amostra foi de 87,5 minutos divididos em quatro rampas de aquecimento: 70 °C (1 min), 100 °C (5 °C/min; 2 min), 175 °C (10 °C/min; 40 min), 225 °C (5°/min) e 245 °C (20 °C/min; 20 min). O H₂ foi utilizado como gás de arraste numa vazão de 1,0 mL/min. A temperatura do injetor e do detector foi de 260 °C. O gás N₂ foi utilizado como *Makeup*, com fluxo de 30 mL/min. A opção Split, em uma relação de 50:1, foi utilizada. A identificação dos ácidos graxos das amostras foi realizada com base no tempo de retenção dos ésteres metílicos dos ácidos graxos dos padrões. Utilizou-se um padrão com 37 compostos (Supelco mix C4 – C24/n. 18919) além de padrões individuais para identificação dos ácidos graxos C18:0, C18:2 *cis*-9, *trans*-11 e C18:2 *trans*-10, *cis*-12 (Nu-Check Prep, Elysian, MN)

3.2.5.2 Cor

Foi retirada uma amostra de 3,0 cm do músculo *Longissimus dorsi*, após 24 horas de resfriamento, exposta ao ar atmosférico por 30 minutos para posterior determinação da cor. As leituras foram realizadas em três pontos distintos de cada amostra, utilizando um colorímetro Minolta Chroma Meter CR 400, com área de medição de 8 mm de diâmetro, ângulo de observação de 10° e fonte iluminante D65 com componente especular incluído, calibrado em padrão branco. O sistema de avaliação utilizado foi o CIELAB, em que o L* corresponde ao teor de luminosidade, a* ao teor de vermelho e b* ao teor de amarelo.

3.2.5.3 Perda de peso por cozimento (PPC)

Foi retirada uma amostra do músculo *Longissimus dorsi* congelado, da meia carcaça esquerda de cada animal. Após serem descongeladas em geladeira a 4°C por 12 horas, as amostras foram pesadas em balança semi-analítica, para obtenção

do peso inicial. Em cada amostra foi inserido em sua parte central um termômetro de termopar de cobre, com leitor digital para o monitoramento da temperatura interna, em seguida cada amostra foi alocada em uma bandeja de alumínio e assadas em forno elétrico a 170°C até o momento em que a temperatura no centro geométrico atingisse 70°C. Ao atingirem a temperatura ambiente as amostras foram pesadas para a obtenção do peso final. A PPC foi obtida por meio da fórmula: $PPC = [(PI - PF)/PI] \times 100$ (OSÓRIO; OSÓRIO; SILVA SOBRINHO, 2008).

3.2.5.4 Força de cisalhamento

As mesmas amostras utilizadas para determinar a PPC foram utilizadas para determinar a força de cisalhamento (FC). De cada amostra foram tirados 10 cubos de 10 mm de largura. Os cubos foram feitos no sentido da fibra, evitando gordura e nervos. Eles foram cortados no aparelho WARNER-BRATZLER para determinação da FC. Foi calculada a média aritmética do resultado dos cubos para análise estatística.

3.2.6 Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o Procedimento MIXED do SAS (2002), e considerado efeito significativo quando $P \leq 0,05$. Todos os dados foram submetidos ao teste de Shapiro Wilk para verificar a normalidade dos resíduos, a retirada de outliers e a homogeneidade das variâncias foram obtidos pelo teste de Levene. O conjunto de dados que não respeitou tais premissas foi submetido às transformações logarítmicas, inversa ou raiz quadrada.

Para as variáveis relacionadas ao ganho médio diário, consumo de nutrientes, EA, empregou-se o seguinte modelo de análise: $Y_{ijk} = \mu + B_i + T_j + P_k + (BP)_{ik} + (TP)_{jk} + E_{ijk}$, onde μ = média geral; B_i = efeito de bloco ($i = 1$ a 10); T_j = efeito do tratamento ($j = 1$ a 4); P_k = efeito de período experimental ($k = 1$ a 2); $(BP)_{ik}$ = interação bloco x período experimental; $(TP)_{jk}$ = interação tratamento x período experimental, e E_{ijk} = erro residual. Bloco e interação bloco período foram incluídos como efeitos aleatórios. As matrizes de covariância “compound symmetry, heterogeneous compound symmetry, autoregressive, heterogeneous autoregressive, unstructured, banded, variance components, toeplitz e heterogeneous toeplitz” foram

testadas e definidas de acordo com o menor valor obtido para “Akaike’s Information Criterion” (AIC). As médias dos tratamentos foram obtidas pelo comando LSMEANS. Os conjuntos de dados foram avaliados por meio de polinômios ortogonais linear e quadrático. Os efeitos de período e interação tratamento x período foram definidos pelo teste F da análise de variância.

Para os parâmetros de carcaça e carne foi utilizado o modelo: $Y_{ij} = \mu + B_i + T_j + E_{ij}$, em que μ = média geral; B_i = efeito de bloco ($i = 1$ a 10); T_j = efeito do tratamento ($j = 1$ a 4), e E_{ij} = erro residual. Bloco foi incluído como efeito aleatório. As médias dos tratamentos foram obtidas pelo comando LSMEANS. Os conjuntos de dados foram avaliados por meio de polinômios ortogonais linear e quadrático.

3.3 Resultados e discussão

A adição crescente de glicerina bruta causou efeito quadrático no CMS ($0,9870 + 0,0320 \cdot \text{trat} - 0,0019 \cdot \text{trat}^2$, $r^2 = 0,0710$), CMSPC ($3,2261 + 0,0706 \cdot \text{trat} - 0,0044 \cdot \text{trat}^2$, $r^2 = 0,0544$), CMSPM ($75,7903 + 1,7268 \cdot \text{trat} - 0,1060 \cdot \text{trat}^2$; $r^2 = 0,0655$), CFDN ($0,2461 + 0,0082 \cdot \text{trat} - 0,0006 \cdot \text{trat}^2$; $r^2 = 0,0935$) e CPB ($0,1637 + 0,0089 \cdot \text{trat} - 0,0005 \cdot \text{trat}^2$; $r^2 = 0,1544$) (Tabela 3)

Não houve interação entre tratamento e período para as variáveis de desempenho analisadas, porém houve efeito de período para CMS, CMSPC, CMSPM, CFDN, CPB e EA.

Alguns pesquisadores relataram que o CMS não foi alterado (GUNN et al., 2010; MACH et al., 2009; GOMES et al., 2011; TERRÉ et al., 2011) enquanto outros relataram que a inclusão de glicerina bruta reduz o CMS (MUSSELMAN et al., 2008; PARSONS et al., 2009). No presente estudo a inclusão de glicerina bruta melhorou o CMS, sendo o maior consumo observado no G5. Quando adicionado mais de 5% de glicerina na MS ocorreu queda na ingestão, porém, o CMS do tratamento com 15% de inclusão foi 8,2% maior que o tratamento controle. Esse aumento no consumo pode ser atribuída a qualidade da glicerina bruta utilizada no presente experimento (80,7% de glicerol).

Tabela 3 – Peso corporal e desempenho dos cordeiros alimentados com dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta em substituição parcial ao milho

Item ⁴	Dietas ¹				EPM ²	Valor de P ³			
	G0	G5	G10	G15		L	Q	P	Trat*per
Idade, dias	97,80	97,60	97,70	97,20	1,43	0,51	0,50	-	-
Peso Inicial, kg	24,06	24,22	23,95	24,05	0,55	0,66	0,84	-	-
Peso Médio, kg	30,52	32,42	32,18	31,90	0,62	0,20	0,08	-	-
Peso Final, kg	37,19	40,61	40,34	39,26	0,69	0,16	0,02	-	-
GMD, kg/dia	0,25	0,29	0,29	0,27	0,01	0,33	0,05	0,29	0,94
CMS, kg/dia	0,97	1,15	1,06	1,05	0,02	0,45	0,04	<0,01	0,67
CMSPC, %	3,19	3,58	3,38	3,34	0,06	0,61	0,05	<0,01	0,69
CMSPM, g/dia	74,73	84,95	79,28	78,90	1,21	0,53	0,04	0,91	0,07
CFDN, kg/dia	0,24	0,28	0,26	0,23	0,01	0,17	0,02	<0,01	0,54
CPB, kg/dia	0,16	0,20	0,19	0,18	>0,01	0,13	<0,01	<0,01	0,10
EA, GMD:CMS	0,25	0,26	0,28	0,26	0,01	0,38	0,11	<0,01	0,81
AST u/L	43,65	42,67	42,63	44,68	1,67	0,86	0,69	0,19	0,84
GGT u/L	49,30	39,49	52,99	44,41	2,52	0,95	0,87	0,06	0,60

¹G0 = dieta sem adição de glicerina bruta; G5 = adição de 5% de glicerina bruta; G10 = adição de 10% de glicerina bruta; G15 = adição de 15% de glicerina bruta.

²EPM = Erro padrão da média.

³L = efeito linear; Q = efeito quadrático; P = efeito de período; Trat*Per = efeito da interação entre tratamento e período.

⁴GMD = ganho médio diário de peso corporal; CMS = consumo de matéria seca; CMSPC = consumo de matéria seca em porcentagem do peso corporal; CMSPM = consumo de matéria seca por peso metabólico; CFDN = consumo de fibra em detergente neutro; CPB = consumo de proteína bruta; EA = eficiência alimentar; AST = aspartato aminotransferase; GGT = gama glutamil-transferase.

Existem hipóteses de que o aumento nos teores de glicerina bruta tornaria o rúmen um ambiente menos saudável, acarretando prejuízos no CMS (GUNN et al., 2010). Uma das justificativas apresentadas pelos pesquisadores para essa queda é o fato da glicerina bruta afetar o crescimento e a atividade celulolítica das bactérias e fungos ruminais (ROGER et al., 1992; PAGGI et al., 2004). Porém tal fato não se aplica ao presente estudo, pois a dieta utilizada apresenta alto teor de concentrado (90%), promovendo ambiente ruminal desfavorável às bactérias celulolíticas. Portanto, a inclusão de glicerina bruta não deve ter afetado a digestibilidade da fibra (como é discutido no capítulo 5) e conseqüentemente não prejudicou o CMS.

Mach et al. (2009) afirmaram que componentes como sal (5,5%) e o metanol (0,09%) presentes na glicerina bruta não exercem efeitos prejudiciais sobre o crescimento dos animais e CMS.

Por ser um ingrediente levemente adocicado (GOMES et al., 2011) a glicerina bruta pode ter conferido características à ração experimental que aumentou a aceitabilidade pelos animais, como menor segregação dos ingredientes, menor geração de pó. Por serem animais jovens e recém-desmamados, ingredientes que promovam melhor aceitabilidade de dietas podem ser interessantes, principalmente durante a adaptação à dieta de confinamento.

O GMD também apresentou efeito quadrático ($0,2505 + 0,0112 \cdot \text{trat} - 0,0007 \cdot \text{trat}^2$; $r^2 = 0,0759$). Houve aumento no ganho de peso até a inclusão de 10% de glicerina bruta. Porém pode-se destacar que o tratamento com 15% de inclusão de glicerina bruta apresentou GMD 8,8% maior que o tratamento controle. O maior GMD pode ser atribuído ao aumento no CMS promovida pela inclusão de glicerina bruta, como já abordada anteriormente.

O aumento no GMD e CMS também pode ser justificados pelo efeito que a glicerina bruta causa na digestibilidade dos nutrientes. Rico et al. (2012) avaliaram a inclusão de glicerol seco em dietas de vacas em lactação e a fermentação "*in vitro*", e verificaram aumento na digestibilidade da MS, MO e FDN. Adicionalmente, Avila et al. (2011) observaram aumento linear no desaparecimento da MS "*in vitro*" quando teores crescentes de glicerol foram adicionados em substituição ao grão de cevada.

Em bovinos de corte confinados, foi observado aumento no GMD quando os animais foram alimentados com dietas contendo até 8% de glicerina bruta, na MS. (PARSONS et al., 2009).

Gunn et al. (2010) afirmaram que a queda no GMD de cordeiros alimentados com mais de 20% de glicerina bruta pode ser atribuída a alterações no ambiente ruminal, resultando em possível redução na digestibilidade de nutrientes.

Não houve efeito da inclusão de glicerina bruta na EA. Como as respostas obtidas para GMD e CMS foram semelhantes (efeito quadrático), a relação entre elas, que seria expressa como a EA não foi afetada, o que reforça a hipótese de que o aumento no GMD foi devido ao aumento no CMS.

Apesar do maior ganho de peso apresentado pelos animais recebendo glicerina bruta, não houve efeito de tratamento para o peso médio dos animais. Como não houve efeito de período para a variável GMD, apenas 28 dias de confinamento recebendo a dieta experimental não foi suficiente para alterar o peso dos animais. Porém após 56 dias de confinamento foi verificado efeito quadrático para o peso final ($37,3265 + 0,8023*\text{trat} - 0,0455*\text{trat}^2$; $r^2 = 0,0973$) conforme o aumento nos teores de glicerina bruta.

Não houve efeito da glicerina bruta na atividade das enzimas AST e GGT. De acordo com Lage et al. (2013), não é esperado elevado risco associado ao consumo de metanol presente na glicerina bruta pois o metanol é naturalmente produzido no rúmen a partir da digestão da pectina. Pol e Demeyer (1988) observaram que a infusão contínua de metanol (1 mol/litro) em taxas de 10 mL/hora no rúmen de ovinos foi completamente convertida a metano.

Com relação às características de carcaça, houve efeito quadrático para PCA ($37,2867 + 0,8271*\text{trat} - 0,0477*\text{trat}^2$; $r^2 = 0,1120$), PCQ ($18,4741 + 0,3657*\text{trat} - 0,0194*\text{trat}^2$; $r^2 = 0,0885$) e PCF ($18,1611 + 0,3564*\text{trat} - 0,0187*\text{trat}^2$; $r^2 = 0,0912$). Para as demais variáveis avaliadas, não houve efeito da inclusão de glicerina bruta nas dietas (Tabela 4).

O efeito quadrático sobre o GMD e peso final justificam os resultados obtidos para PCA e as características de carcaça. Porém, apesar de influenciar o PCA, PCQ e PCF, não houve efeito sob a deposição de gordura (EGS, EPC e peso da gordura peri-renal) e deposição muscular (AOL). Pelo fato da glicerina ser convertida rapidamente a propionato (JOHNS, 1953) e pela provável queda na relação acetato:propionato de cordeiros alimentados com glicerina, era esperado que houvesse efeito sob a deposição de gordura (GUNN et al., 2010), que está associada as variáveis EGS e EPC.

Tabela 4 – Peso ao abate e características de carcaça de cordeiros alimentados com dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta em substituição parcial ao milho

Item ⁴	Dietas ¹				EPM ²	Valor de P ³	
	G0	G5	G10	G15		L	Q
PCA, kg	37,2	40,6	40,8	39,1	0,65	0,16	0,01
PCQ, kg	18,5	19,9	20,4	19,1	0,35	0,07	0,03
RCQ, %	49,7	48,9	50,2	50,1	0,35	0,34	0,50
PCF, kg	18,2	19,5	20,1	19,3	0,34	0,06	0,03
RCF, %	48,9	48,0	49,3	49,4	0,35	0,30	0,44
PR, %	1,7	1,7	1,7	1,5	0,08	0,42	0,41
AOL, cm ²	12,3	12,7	13,4	12,8	0,24	0,27	0,19
EGS, mm	1,3	1,4	1,4	1,4	0,04	0,46	0,50
EPC, mm	11,1	11,5	11,0	10,6	0,26	0,34	0,47
Peso Fígado, g	702,5	762,1	716,5	723,0	17,77	0,92	0,45
Peso Vesícula, g	34,8	42,1	39,7	35,3	2,06	0,96	0,19
PGPR, g	511,5	659,7	599,7	567,1	23,31	0,61	0,07

¹G0 = dieta sem adição de glicerina bruta; G5 = adição de 5% de glicerina bruta; G10 = adição de 10% de glicerina bruta; G15 = adição de 15% de glicerina bruta (% MS)

²EPM = Erro padrão da média.

³L = efeito linear; Q = efeito quadrático.

⁴PCA = peso da carcaça ao abate; PCQ = peso da carcaça quente; RCQ = rendimento da carcaça quente; PCF = peso da carcaça fria; RCF = rendimento da carcaça fria; PR: perda por resfriamento; AOL = área de olho de lombo ; EGS = espessura de gordura subcutânea; EPC = espessura da parede corporal; PGPR = peso da gordura peri-renal.

Devido ao fato da glicerina bruta apresentar metanol em sua composição, acreditou-se que poderia haver alguma influência no peso da vesícula biliar e do fígado, porém tal evento não foi verificado.

A maciez, a cor da carne e a perda de peso por cocção não foram afetadas com a inclusão de glicerina bruta nas dietas (Tabela 5). Estudos demonstram que a idade e raça dos animais estão diretamente relacionadas a características da carne (GULARTE et al., 2000; SOBRINHO et al., 2005). Portanto, como os animais utilizados eram do mesmo grupamento genético e com idade similar, o fato de não haver diferença entre os tratamentos deixa claro que a glicerina bruta não afeta as características físicas da carne.

Gomes et al. (2011) observaram que a inclusão de glicerina bruta na dieta de ovinos não teve influência nas características da carcaça e da carne, como conformação, consistência da gordura, cor e composição química da carne.

De acordo com Freund et al. (1995) o glicerol aumenta a retenção de fluidos através da redução da água livre no organismo. Tal efeito foi relatado por Parker et al. (2007), que observaram que o glicerol induz maior hidratação do animal, o que implicaria em melhor qualidade de carne.

Pesquisas recentes tem demonstrado que a inclusão de glicerol diminuiu a lipólise ruminal, podendo alterar o perfil de ácidos graxos da carne ou leite. Edwards et al (2012) verificaram que a suplementação com 6 ou 20% de glicerol gerou redução na lipólise ruminal maior que 80% quando comparada com o tratamento controle. Os autores ponderaram que apesar de obter tal resposta com o estudo realizado não foi possível estabelecer qual o mecanismo de ação do glicerol na inibição da lipólise ruminal.

Krueger et al. (2010) suplementaram com 2 ou 20% de glicerol culturas mistas de microrganismos ruminais e observaram redução nas taxas de acúmulo de ácidos graxos não esterificados de 48 e 77%, respectivamente, indicando menor taxa de lipólise. A biohidrogenação realizada pelos microrganismos ruminais, saturam rapidamente os ácidos graxos insaturados consumidos pelos ruminantes, e isso pode impedir a incorporação de gordura insaturada no leite e na carne (HARFOOT; HAZLEWOOD, 1997). Como a lipólise ruminal é um pré-requisito para a biohidrogenação dos ácidos graxos (EDWARDS et al., 2012), quando é adicionado em uma dieta ingredientes que tendem a diminuir a lipólise, conseqüentemente, diminui-se a biohidrogenação.

Tabela 5 – Características físicas da carne de cordeiros alimentados com dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta em substituição parcial ao milho

Item ⁴	Dietas ¹				EPM ²	Valor de P ³	
	G0	G5	G10	G15		L	Q
PPC, %	26,58	23,76	26,29	27,67	0,67	0,31	0,09
Maciez, kg	5,56	5,26	5,75	5,64	0,20	0,70	0,83
Cor							
L*	39,88	39,65	38,99	40,49	0,32	0,63	0,13
a*	17,38	16,84	17,16	17,68	0,22	0,56	0,26
b*	4,79	4,35	4,46	4,90	0,17	0,78	0,20

¹G0 = dieta sem adição de glicerina bruta; G5 = adição de 5% de glicerina bruta; G10 = adição de 10% de glicerina bruta; G15 = adição de 15% de glicerina bruta.

²EPM = Erro padrão da média.

³L = efeito linear; Q = efeito quadrático.

⁴PPC = Perda de peso por cocção; L* = teor de luminosidade; a* teor de vermelho; b* = teor de amarelo.

O perfil de ácidos graxos da carne foi influenciado pontualmente pela inclusão de glicerina bruta (Tabela 6). Foi observado efeito quadrático para os ácidos mirístico ($1,5931 + 0,0526*\text{trat} - 0,0044*\text{trat}^2$; $r^2 = 0,1318$), palmítico ($18,2679 + 0,02659*\text{trat} - 0,0200*\text{trat}^2$; $r^2 = 0,1529$), palmitoleico ($1,4235 + 0,0386*\text{trat} - 0,0027*\text{trat}^2$; $r^2 = 0,1146$), linoleico ($6,0069 - 0,2188*\text{trat} + 0,0126*\text{trat}^2$; $r^2 = 0,1131$) e rumênico ($0,1957 + 0,0134*\text{trat} - 0,0009*\text{trat}^2$; $r^2 = 0,1880$).

Saber o perfil de ácidos graxos de cadeia longa da carne é importante, pois alguns deles podem afetar a saúde humana, como por exemplo, ácido palmítico, que é considerado prejudicial para as concentrações sanguíneas de colesterol (YU et al., 1995). As dietas experimentais resultaram em efeito quadrático para o ácido palmítico, sendo que, ao adicionar 15% de glicerina bruta na dieta houve ligeira queda de (2,3%) em relação à dieta controle. Menores teores de inclusão do co-produto (5 ou 10%) acarretaram em aumento na concentração do ácido palmítico.

A inclusão de glicerina bruta resultou em redução na concentração do ácido linoleico em relação à dieta controle. Estudos demonstraram que dietas com alto concentrado estão associadas a baixo pH ruminal, o que diminui a atividade das hidrogenases, sendo menor a conversão do ácido linoleico a esteárico (TOVE; MOTRONE, 1962). Como será discutido no Capítulo 5, a adição de glicerina aumentou o pH ruminal, justificando assim a maior atividade de biohidrogenação, em consequência, menor concentração de ácido linoleico.

Não foi verificado efeito da adição de glicerina bruta na porcentagem de ácidos graxos de cadeia curta, média, longa, ácidos graxos saturados, insaturados, monoinsaturados (MUFA) ou poliinsaturados (PUFA). Com isso pode-se sugerir que a glicerina bruta possui pouco efeito sobre a lipólise e biohidrogenação, diferentemente dos resultados obtidos em trabalhos *in vitro*. Consequentemente, a adição de glicerina bruta causa pouco impacto no perfil de ácidos graxos da carne. Terré et al. (2011) afirmaram que a diferença na composição de ácidos graxos causado pela adição de glicerina, não parece ter maiores consequências sobre o valor nutricional da carne de cordeiros.

Para melhor avaliação da inclusão de glicerina bruta sobre o perfil de ácidos graxos, se faz necessário novos estudos que identifique o real impacto desse co-produto, especialmente na biohidrogenação ruminal.

Tabela 6 – Composição de ácidos graxos da gordura da carne dos cordeiros alimentados com dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta em substituição parcial ao milho (continua)

Ácidos graxos, g/100 g	Dietas ¹				EPM ²	Valor de P ³	
	G0	G5	G10	G15		L	Q
C10:0 (Cáprico)	0,11	0,11	0,11	0,11	<0,01	0,62	0,26
C12:0 (Láurico)	0,12	0,12	0,12	0,10	<0,01	0,12	0,08
C14:0 (Mirístico)	1,61	1,70	1,73	1,39	0,06	0,15	0,03
C14:1 (Miristoleico)	0,24	0,22	0,20	0,21	0,01	0,29	0,56
C15:0 (Pentadenoico)	0,36	0,36	0,39	0,40	0,01	0,16	0,66
C16:0 (Palmítico)	18,22	19,26	18,77	17,81	0,22	0,40	0,04
C16:1 (Palmitoleico)	1,41	1,58	1,51	1,41	0,03	0,76	0,04
C18:0 (Estearico)	11,15	10,85	11,11	10,65	0,24	0,56	0,86
C18:1 T11 (Vacênico)	3,08	2,54	2,57	2,25	0,16	0,09	0,73
C18:1 n9 (Oleico)	32,61	35,94	33,95	34,48	0,49	0,40	0,15
C18:2 n6 (Linoleico)	5,98	5,31	4,91	5,58	<0,01	0,25	0,04
C18:2 c9t11 CLA (Rumênico)	0,19	0,25	0,23	0,21	<0,01	0,67	<0,01
C18:2 t10c12 CLA	0,10	0,09	0,10	0,10	<0,01	0,37	0,43
C18:3 n6 (Gamalinolênico)	0,07	0,07	0,07	0,07	<0,01	0,80	0,63
C18:3 n3 (Linolênico)	0,12	0,12	0,12	0,11	<0,01	0,70	0,71

¹G0 = dieta sem adição de glicerina bruta; G5 = adição de 5% de glicerina bruta; G10 = adição de 10% de glicerina bruta; G15 = adição de 15% de glicerina bruta.

²EPM = Erro padrão da média.

³L = efeito linear; Q = efeito quadrático.

Tabela 6 – Composição de ácidos graxos da gordura da carne dos cordeiros alimentados com dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta em substituição parcial ao milho

(conclusão)

Ácidos graxos, g/100 g	Dietas ¹				EPM ²	Valor de P ³	
	G0	G5	G10	G15		L	Q
Outros	8,58	7,81	8,79	9,72	0,25	0,05	0,08
Não identificados	17,25	14,86	16,34	17,08	0,59	0,86	0,24
Cadeia curta	0,33	0,33	0,34	0,30	0,01	0,39	0,40
Cadeia média	27,44	28,01	27,91	26,50	0,28	0,21	0,06
Cadeia longa	72,23	71,66	71,74	73,20	0,28	0,21	0,06
Saturados	41,10	40,69	41,47	39,95	0,32	0,39	0,42
Insaturados	58,90	59,31	58,53	60,05	0,32	0,39	0,42
MUFA ⁴	47,30	49,16	47,66	48,58	0,41	0,55	0,59
PUFA ⁵	11,60	10,15	10,86	11,47	0,41	0,93	0,24

¹G0 = dieta sem adição de glicerina bruta; G5 = adição de 5% de glicerina bruta; G10 = adição de 10% de glicerina bruta; G15 = adição de 15% de glicerina bruta.

²EPM = Erro padrão da média.

³L = efeito linear; Q = efeito quadrático.

⁴MUFA = ácidos graxos monoinsaturados

⁵PUFA = ácidos graxos poliinsaturados

3.4 Conclusão

A glicerina bruta pode ser adicionada até 10% na MS da dieta, em substituição ao milho, aumentando o desempenho de cordeiros confinados. A inclusão da glicerina bruta não causa efeitos concisos nas qualidades físicas e perfil de ácidos graxos da carne. A presença de baixos teores de metanol na glicerina bruta não compromete a saúde hepática.

Referências

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 16th ed. Gaithersburg, 1997. 1141p.

AVILA, J.S.; CHAVES, A.V.; HERNANDEZ-CALVA, M. BEAUCHEMIN, K.A.; MCGINN, S.M.; WANG, Y.; HARSTAD, O.M.; MCALLISTER, T.A. Effects of replacing barley grain in feedlot diets with increasing levels of glycerol on in vitro fermentation and methane production. **Animal Feed Science and Technology**. Amsterdam, v.166-167, p.265-268, 2011.

BOWKER, M.; DAVIES, P.R.; AL-MAZROAI, L.S. Photocatalytic Reforming of Glycerol over Gold and Palladium as an Alternative Fuel Source. **Journal Catalysis Letters**, Cham, v.128, p.253-255, 2008.

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

EDWARDS, H.D.; ANDERSON, R.C.; MILLER, R.K.; TAYLOR, T.M.; HARDIN, M.D.; SMITH, S.B.; KRUEGER, N.A.; NISBET, D.J. Glycerol inhibition of ruminal lipolysis in vitro. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.95, p.51176-5181, 2012.

FREUND, B.J.; MONTAIN, S.J.; YOUNG, A.J.; SAWKA, M.N.; DELUCA, J.P.; PANDOLF, K.B.; VALERI, C.R. Glycerol hyperhydration: Hormonal, renal, and vascular fluid responses. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v.79, n.6, p.2069–2077, 1995.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, Rockville, v.226, n.1, p.497-509, 1957.

GOMES, M.A.B.; MORAES, G.V.; MATAVELI, M.; MACEDO, F.A.F.; CARNEIRO, T.C.; ROSSI, R.M. Performance and carcass characteristics of lambs fed on diets supplemented with glycerin from biodiesel production. **Brazilian Journal of Animal Science**, Viçosa, v.40, p.2211-2219, 2011.

GULARTE, M.A.; TREPTOW, R.O.; POUHEY, J.L. OSÓRIO, J.C. Idade e sexo na maciez da carne de ovinos da raça Corriedale. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n.3, p.485-488, 2000.

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

HARFOOT, C.G.; HAZLEWOOD G.P. Lipid metabolism in the rumen. 1997. In: HOBSON P.N. ; STEWART C.S. (Ed.). **The Rumen Microbial Ecosystem**. London: UK: Blackie Academic and Professional, 1997. p. 382–419.

HESS, B.W.; LAKE, S.L.; GUNTER, S.A. Using glycerin as a supplement for forage-fed ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.86(E-Suppl. 2), p.392-393. (Abstr.), 2008.

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

KRAMER, J.K.G.; FELLNER, V.; DUGAN, M.E.D; SAUNER, F.D.; MASSOBA, M.M. YURAWECZ, M.P. Evaluating acid and base catalysts in the methylation of milk and rumen fatty acids with special emphasis conjugates dieno and total trans fatty acids. **Lipids**, Heidelberg, v. 32, p. 1219-1228, 1997.

KREHBIEL, C.R. Ruminal and physiological metabolism of glycerin. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.86(E-Suppl. 2), p.392. (Abstr.), 2008.

KRUEGER, N.A.; ANDERSON R.C.; TEDESCHI L.O.; CALLAWAY T.R.; EDRINGTON T.S.; NISBET D.J. Evaluation of feeding glycerol on free-fatty acid production and fermentation kinetics of mixed ruminal microbes in vitro. **Bioresource Technology**, Amsterdam, v.101, p.8469–8472, 2010.

LAGE, J.F.; PAULINO, P.V.R.; PEREIRA, L.G.R; DUARTE, M.S.; VALADARES FILHO, S.C.; OLIVEIRA, A.S.; SOUZA, N.K.P.; LIMA, J.C.M. Carcass characteristics of feedlot lambs fed crude glycerin contaminated with high concentrations of crude fat. **Meat Science**, Barking, v.96, p.108-113, 2013.

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

MUSSELMAN, A.F.; VAN EMON, M.L.; GUNN, P.J.; RUSK, C.P.; NEARY, M.K.; LEMENAGER, R.P.; LAKE, S.L. Effects of crude glycerin on feedlot performance and carcass characteristics of market lambs. **American Society of Animal Science**, Champaign, v.59, p.353–355, 2008.

NOTTER, D.R.; GREINER, S.P.; WAHLBERG, M.L. Growth and carcass characteristics of lambs sired by Dorper and Dorset rams. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.82, n.5, p.1323-1328, 2004.

OSÓRIO, M.T.M.; OSÓRIO, J.C.S.; SILVA SOBRINHO, A.G. Avaliação instrumental da carne ovina. In: SILVA SOBRINHO, A.G.; SÃNUDO, C.; OSÓRIO, J.C.S.; ARRIBAS, M.M.C.; OSÓRIO, M.T.M. (Ed.). **Produção de Carne Ovina**, Jaboticabal – SP: FUNEP, 2008. p. 129-175.

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

PARKER, A.J.; DOBSON, G.P.; FITZPATRICK, L.A. Physiological and metabolic effects of prophylactic treatment with the osmolytes glycerol and betaine on *Bos indicus* steers during long duration transportation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.85, n.11, p.2916–2923, 2007.

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

POL, A.; DEMEYER, D.I. Fermentation of methanol in the sheep rumen. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.54, n.3, p.832–834, 1988.

RICO, D.E.; CHUNG, Y.-H.; MARTINEZ, C.M.; CASSIDY, T.W.; HEYLER, K.S.; VARGA, G.A. Effects of partially replacing dietary starch with dry glycerol in a lactating cow diet on ruminal fermentation during continuous culture. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.95, p.3310-3317, 2012.

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

SAS INSTITUTE. **Sas systems for Windows**: version 9. Cary, 2002.

SCHOONMAKER, J.P.; FLUHARTY, F.L.; LOERCH, S.C. 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**, Champaign, v.82, n.1, p.137–148, 2004.

SCHMID, M.; FOSTNER, L.A. **Laboratorie Testing in Veterinary Medicine Diagnosis in the Clinical Monitoring**. Mannheim Boehringer, 1986. 253p.

SOBRINHO, A.G.S.; PURCHAS, R.W.; KADIM, I.T. YAMAMOTO, S.M. Características de qualidade de carne de ovinos de diferentes genótipos e idades ao abate. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.34, n.3, p. 1070-1078, 2005.

TERRÉ, M.; NUDA A.; CASADO A.; BACH, A. The use of glycerine in rations for light lamb during the fattening period. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v.164 p. 262-267, 2011.

TOVE, S.B.; MATRONE G. Effect of purified diets on the fatty acid composition of sheep tallow. **Journal of Nutrition**, Rockville, v.76, p.271–277, 1962.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.74, p.3583-3597, 1991.

YU, S.; DERR, J.; ETHERTON T. D.; KRIS-ETHERTON P. M.;. Plasma cholesterol-predictive equations demonstrate that stearic acid is neutral and monosaturated fatty acids are hypocholesterolemic. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Rockville, v.61, p.1129–1139, 1995.

4 SUBSTITUIÇÃO PARCIAL DO MILHO PELA GLICERINA BRUTA: DESEMPENHO E CARACTERÍSTICAS DA CARÇA DE CORDEIROS WHITE DORPER X SANTA INÊS

Resumo

Cinquenta cordeiros (40 machos não castrados e 10 fêmeas) White Dorper x Santa Inês, foram distribuídos em blocos completos casualizados, definidos pelo peso inicial e a idade, para avaliar os efeitos da inclusão de glicerina bruta em substituição parcial ao milho em rações com alta proporção de concentrado, sobre o desempenho, características de carcaça e parâmetros enzimáticos. As rações experimentais foram isonitrogenadas ($15,7 \pm 0,3\%$ de PB, na MS), sendo o ajuste proteico realizado pela inclusão de farelo de soja, e compostas por 90% de concentrado e 10% de volumoso. Os teores de inclusão de glicerina bruta (83,6% de glicerol, na MS) foram: 0, 5, 10, 15 e 20% na MS, originando os tratamentos G0, G5, G10, G15 e G20, respectivamente. Houve efeito de período para todas as variáveis de desempenho analisadas. A substituição do milho pela glicerina bruta não afetou as variáveis de desempenho analisadas. Houve efeito linear para o consumo de matéria mineral. Houve interação entre tratamento e período para as variáveis consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria seca por peso metabólico (CMSPM), consumo de fibra em detergente neutro (CFDN), consumo de proteína bruta (CPB), consumo de matéria orgânica (CMO) e consumo de matéria mineral (CMM). Durante o primeiro período houve efeito linear decrescente para CPB e efeito quadrático para CMM. Com relação ao segundo período houve efeito quadrático para CMS, CMO, CFDN e CMM. Não houve efeito da inclusão de glicerina sobre a atividade das enzimas aspartato-aminotransferase e gama glutamil-transferase. Os parâmetros de carcaça avaliados não foram afetados pela inclusão de glicerina bruta em substituição ao milho. A glicerina bruta pode substituir o milho em até 20%, mantendo o desempenho dos animais e as características de carcaça.

Palavras-chave: Co-produto; Glicerol; Ovinos; Confinamento

Abstract

Fifty (40 males and 10 females), White Dorper x Santa Inês lambs were assigned to a randomized complete block design, defined by initial BW and age, and were used to determine the effects of partial replacement of corn by crude glycerin on growth, carcass characteristics and hepatic enzymes of lambs fed high concentrate diets. Lambs were fed a TMR composed of 90% concentrate and 10% coastcross hay. The diets were isonitrogenous ($15.7 \pm 0.3\%$ CP, DM basis) and the protein adjusted was performed with increased soybean meal. Increasing levels of crude glycerin (83.6% glycerol, DM basis) were: 0, 5, 10, 15 or 20% corresponding to the experimental diets G0, G5, G10, G15 and G20, respectively, and were analyzed: average daily gain, dry matter intake, feed efficiency, hepatic enzymes (aspartate aminotransferase and gamma-glutamyl transfesase) and carcass characteristics (dressing percentage, longissimus muscle area, backfat thickness and body wall

thickness). There was effect of period for all performance measures. The addition of crude glycerin did not affect performance, but increased mineral matter intake. There was treatment and period interaction for DMI, DMIBW, NDFI, CPI, OMI and MMI. During the first period crude glycerin decreased CPI and there was a quadratic effect for MMI. In the second period there was a quadratic effect for DMI, OMI, NDFI and MMI. Crude glycerin did not affect AST concentration. Carcass characteristics were not affected by increasing levels of crude glycerin. Crude glycerin can be used as a substitute for corn in high concentrate diets of ram lambs without affecting performance and carcass characteristics.

Keywords: Byproducts; Glycerol; Sheep; Feedlot

4.1 Introdução

Os elevados custos de produção constantemente são atribuídos a alimentação dos animais, que pode representar até 80%. Apesar de não serem os ingredientes mais caros que compõem a ração, os alimentos energéticos são incluídos em grandes quantidades, contribuindo substancialmente com o aumento nos custos da dieta. Logo, existe grande interesse em utilizar ingredientes energéticos alternativos ao milho na formulação de rações, como por exemplo, os co-produtos da indústria do biodiesel.

Durante a produção do biodiesel ocorre o processo de conversão de triglicerídeos em ácidos graxos e glicerol, gerando o co-produto denominado glicerina bruta (GONÇALVES et al., 2009). Ela pode ser classificada de acordo com sua composição, sendo de baixa, média e alta pureza quando o teor de glicerol for de 50 a 70%, de 80 a 99% e acima de 99%, respectivamente (SÜDEKUM, 2008). As características da glicerina bruta aumentam o interesse em utilizá-la na nutrição animal por ser um ingrediente levemente adocicado, viscoso e de acordo com Drouillard (2008) pode prevenir a segregação dos componentes da ração total, tornando a mistura mais homogênea.

De acordo com Mach et al. (2009) a glicerina bruta, contendo 86,0% de glicerol, demonstra ser um bom ingrediente energético, e estimaram a EM como sendo 3,47 Mcal/kg de MS. O glicerol, principal componente da glicerina bruta, torna-se de grande interesse, pois é precursor gliconeogênico. Khrebiel (2008) relatou que o glicerol pode ter três destinos ao entrar no rúmen: passar para o intestino delgado, absorção pela parede ruminal ou fermentado a propionato.

Vários estudos têm sido desenvolvidos a fim de avaliar a inclusão de glicerina bruta na dieta de ruminantes, porém os resultados obtidos são contraditórios (LAGE et al., 2013; TERRÉ et al., 2011; MUSSELMAN et al., 2008). De acordo com Gunn et al. (2010), existem hipóteses de que o aumento nos teores de glicerina causam impactos negativos no ambiente ruminal, que acarretam em queda na ingestão de matéria seca. Devido a isso, existe a necessidade de testar hipóteses que apontem a razão exata das causas da queda no desempenho animal associadas às elevadas concentrações de glicerina bruta nas dietas de ruminantes.

Parte dessas respostas pode ser explicada pela glicerina bruta ser um co-produto, logo, não existe controle de qualidade para tal ingrediente, gerando assim grande variação em sua composição. Outro ponto importante é com relação à adequação proteica da dieta quando se utiliza a glicerina bruta, sendo ela feita com proteína degradável ou não degradável no rúmen.

Os objetivos deste estudo foram avaliar o desempenho e as características da carcaça de cordeiros recebendo teores crescentes de glicerina bruta em substituição ao milho, sendo a adequação proteica realizada com o aumento nos teores de farelo de soja.

4.2 Material e métodos

4.2.1 Animais e instalações experimentais

O presente estudo foi conduzido nas instalações do Sistema Intensivo de Produção de Ovinos e Caprinos (SIPOC) do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, localizada em Piracicaba - SP (22° 42' 24" S e 47° 37' 53" O).

Foram utilizados cinquenta cordeiros, sendo 40 machos não castrados (peso inicial $23,1 \pm 0,6$ kg e $71 \pm 1,2$ dias de idade) e 10 fêmeas (peso inicial $18,6 \pm 0,3$ kg e $68 \pm 1,6$ dias de idade), White Dorper x Santa Inês, os quais foram confinados em baias individuais (4,20 x 1,30 m) cobertas, ao abrigo da chuva e luz solar direta, com piso concretado, providos de bebedouro e cocho para fornecimento de ração e sal mineral.

No dia anterior ao início do experimento os cordeiros(as) foram everminados com moxidectina 1% (Cydectin, Fort Dodge Saúde Animal, Campinas, São Paulo,

Brasil) na dosagem de 1 mL/50 kg de peso corporal (PC) e receberam uma aplicação de vitamina ADE (A-D-E, Pfizer, Guarulhos, São Paulo, Brasil)

4.2.2 Delineamento experimental, tratamentos e manejo alimentar

O delineamento experimental foi de blocos completos casualizados, com cinco tratamentos e dez repetições. Os animais foram agrupados por sexo e idade e os blocos definidos pelo peso no início do experimento.

A glicerina bruta utilizada (Tabela 7) foi advinda da produção de biodiesel a partir do óleo de soja (Caramuru Alimentos S.A. Itumbiara, GO, Brasil). As dietas experimentais foram definidas pela substituição parcial do milho pela glicerina bruta e formuladas através do programa “Small Ruminant Nutrition System 6.0”. As dietas eram constituídas de 10% de volumoso (feno de “coastcross”) e 90% de concentrado na matéria seca (MS) e foram formuladas para serem isonitrogenadas. A correção dos valores de proteína bruta à medida que foi adicionado glicerina foi realizada aumentando os teores farelo de soja. A inclusão de glicerina bruta na ração foi na proporção de 0, 5, 10 15 e 20% na MS, dando origem aos tratamentos G0, G5, G10, G15 e G20, respectivamente (Tabela 8).

O experimento teve duração de 56 dias, sendo dividido em dois períodos de 28 dias. Os animais foram pesados após jejum alimentar de 14 horas, nos dias 0, 28 e 56.

O milho e o feno foram moídos utilizando um triturador (Nogueira® DPM – 4, Itapira, São Paulo, Brasil), com peneira de 10 mm. Posteriormente foram misturados ao farelo de soja, glicerina bruta, ureia, calcário, cloreto de amônio, mistura mineral e monensina sódica (Elanco do Brasil, São Paulo, Brasil) utilizando-se misturador horizontal com capacidade para 500 kg (Lucato®, Limeira, Brasil). A monensina sódica foi adicionada na proporção de 25 mg/kg de matéria natural. A cada partida de ração uma amostra foi colhida, conservada a -18 °C para posterior análise.

A alimentação foi fornecida três vezes/semana, *ad libitum*, e uma vez por semana as sobras de cada unidade experimental foram pesadas para a determinação do consumo diário de MS. As sobras foram compostas por tratamento, amostradas (10%) e conservadas a -18°C.

Tabela 7 – Composição química da glicerina bruta

Variáveis	% na MS
MS	79,3
Glicerol	83,6
Extrato etéreo	0,1
Sódio	1,8
Metanol	397,0 mg/kg

Tabela 8 – Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais, % da MS

	Dietas ¹ (% na MS)				
	G0	G5	G10	G15	G20
Ingredientes					
Feno de “coastcross”	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Farelo de soja	7,1	8,3	9,5	10,7	11,9
Glicerina	0,0	5,0	10,0	15,0	20,0
Milho moído	78,7	72,5	66,3	60,1	53,9
Ureia	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Calcário	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7
Sal mineral ²	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Cloreto de amônio	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Composição química					
Matéria seca (% da MN)	88,0	87,4	86,9	85,7	85,0
Proteína bruta	15,1	15,0	15,1	16,0	15,9
Fibra em detergente neutro	15,8	16,0	16,8	16,1	15,9
MO	94,2	94,1	93,5	93,5	93,0
MM	5,8	5,9	6,5	6,5	7,0

¹G0 = dieta sem adição de glicerina bruta; G5 = adição de 5% de glicerina bruta; G10 = adição de 10% de glicerina bruta; G15 = adição de 15% de glicerina bruta; G20 = adição de 20% de glicerina bruta.

²Composição: Ca 13,4%, P 7,5%, Mg 1%, S 7%, Cl 21,8%, Na 14,5%, Mn 1100 mg/kg, Fe 500 mg/kg, Zn 4600 mg/kg, Cu 300 mg/kg, Co 40 mg/kg, I 55 mg/kg, Se 30 mg/kg.

A eficiência alimentar (EA) foi calculada tomando como base o consumo médio diário de MS e o ganho de peso médio diário em cada período.

As amostras das rações ofertadas e das sobras foram processadas em moinho tipo Wiley (Marconi, Piracicaba, Brasil) com peneiras com crivos de 1,0 mm e analisadas para determinação de matéria seca (MS) por meio de secagem das amostras em estufa a 105° C por 24 horas, e matéria mineral (MM) através da incineração das amostras em mufla a 550°C por 4 horas (AOAC, 1990), nitrogênio total utilizando aparelho Leco FP528 (Leco Corporation, St. Joseph, MI), conforme a AOAC (1997), e fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) conforme Van Soest, Robertson e Lewis (1991), utilizando α -amilase termoestável e sulfito de sódio, em aparelho Ankom 2000 (Ankom Tech. Corp., Fairport, NY). As análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição e Reprodução e Animal (LNRA) e no Laboratório de Bromatologia, ambos do Departamento de Zootecnia da ESALQ – USP.

4.2.3 Parâmetros enzimáticos

Foram realizadas colheitas de sangue nos dias 0, 28 e 56, duas horas após o fornecimento da ração, por punção na veia jugular, em tubos tipo Vacutainer® com gel separador inerte para soro. Logo após a colheita, os tubos foram centrifugados a 4.000 x g a 4°C por 15 minutos e alíquotas do soro obtido foram colocados em dois microtubos plásticos com capacidade para 1,5 mL, armazenados a -18°C e posteriormente realizada as análises para avaliação da função hepática.

A concentração sérica das enzimas aspartato-aminotransferase (AST) e gama glutamil-transferase (gama GT) foram determinadas segundo a metodologia descrita por Schmid e Fostner (1986), em analisador bioquímico Randox, marca AMS, utilizando-se kit comercial da marca Biosystems, junto a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/USP) em São Paulo, laboratório de pesquisa do departamento de clínica médica.

4.2.4 Abate dos animais e características da carcaça

Ao final dos 56 dias de confinamento os 40 cordeiros machos foram abatidos, após jejum alimentar de 14 horas. Posteriormente a evisceração, esfola e toailete, as

carcaças foram pesadas (PCQ), e resfriadas a 4°C em câmara de refrigeração por 24 horas, sendo novamente pesadas para obtenção do peso de carcaça fria (PCF). O rendimento de carcaça quente (RCQ), rendimento de carcaça fria (RCF) e perda por resfriamento (PR) foram calculados pelas fórmulas: $RCQ = (PCQ/PCA) \times 100$; $RCF = (PCF/PCA) \times 100$; $PR = [(PCQ - PCF)/PCQ] \times 100$, sendo que PCA = peso corporal ao abate.

A medida da espessura de gordura subcutânea (EGS) foi realizada, utilizando-se um paquímetro digital (Battery, modelo SR44) graduado em mm, após 24 horas de resfriamento na secção transversal do músculo *Longissimus dorsi*, entre a 12° e 13° vértebras torácicas. A face exposta do músculo *Longissimus dorsi* foi desenhada em papel vegetal e posteriormente sua área foi mensurada através de um planímetro graduado em cm² para obtenção da área de olho de lombo (AOL). Foi calculada a média aritmética da EGS e AOL de cada carcaça, a partir dos valores encontrados dos lados direito e esquerdo de cada animal.

Na mesma secção transversal entre a 12° e 13° vértebras torácicas, foi mensurada a espessura de parede corporal, medida 12,5 cm lateralmente da linha média da coluna vertebral (NOTTER; GREINER; WAHLBERG, 2004), utilizando um paquímetro digital graduado em mm. Para análise estatística foi utilizada a média aritmética das duas mensurações obtidas de cada carcaça, sendo uma do lado esquerdo e a outra do direito.

4.2.5 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o Procedimento MIXED do SAS (2002), e considerado efeito significativo quando $P \leq 0,05$. Todos os dados foram submetidos ao teste de Shapiro Wilk para verificar a normalidade dos resíduos, a retirada de outliers e a homogeneidade das variâncias pelo teste de Levene. O conjunto de dados que não respeitou tais premissas foi submetido às transformações logarítmicas, inversa ou raiz quadrada.

Para as variáveis relacionadas ao ganho médio diário, consumo de nutrientes, EA, empregou-se o seguinte modelo de análise: $Y_{ijk} = \mu + B_i + T_j + P_k + (BP)_{ik} + (TP)_{jk} + E_{ijk}$, onde μ = média geral; B_i = efeito de bloco ($i = 1$ a 10); T_j = efeito do tratamento ($j = 1$ a 5); P_k = efeito de período experimental ($k = 1$ a 2); $(BP)_{ik}$ = interação bloco x período experimental; $(TP)_{jk}$ = interação tratamento x período

experimental, e E_{ijk} = erro residual. Bloco e interação bloco período foram incluídos como efeitos aleatórios. As matrizes de covariância “compound symmetry, heterogeneous compound symmetry, autoregressive, heterogeneous autoregressive, unstructured, banded, variance components, toeplitz e heterogeneous toeplitz” foram testadas e definidas de acordo com o menor valor obtido para “Akaike’s Information Criterion” (AIC). As médias dos tratamentos foram obtidas pelo comando LSMEANS. Os conjuntos de dados foram avaliados por meio de polinômios ortogonais linear, quadrático, cúbico e desvio. Os efeitos de período e interação tratamento x período foram definidos pelo teste F da análise de variância.

Para os parâmetros de carcaça e carne foram utilizados o modelo: $Y_{ij} = \mu + B_i + T_j + E_{ij}$, em que μ = média geral; B_i = efeito de bloco ($i = 1$ a 8); T_j = efeito do tratamento ($j = 1$ a 5), e E_{ij} = erro residual. Bloco foi incluído como efeito aleatório. As médias dos tratamentos foram obtidas pelo comando LSMEANS. Os conjuntos de dados foram avaliados por meio de polinômios ortogonais linear, quadrático, cúbico e desvio.

4.3 Resultados e discussão

A substituição do milho pela glicerina bruta não afetou as variáveis de desempenho analisadas (Tabela 9). Houve apenas efeito linear para o consumo de matéria mineral ($0,0534 + 0,0009 \cdot \text{trat}$; $r^2 = 0,1271$). Como os tratamentos não influenciaram o CMS, o aumento na CMM é justificado pela utilização de hidróxido de sódio como catalizador na reação de transesterificação durante o processo de produção de biodiesel. Com isso, o produto remanescente desse processo, no caso a glicerina bruta, é rica em sódio (Tabela 7).

Houve efeito de período para todas as variáveis de desempenho analisadas, exceto para CMSPC.

Houve interação entre tratamento e período para as variáveis CMS, CMSPC, CFDN, CPB, CMO e CMM. Realizando o desdobramento das interações, durante o primeiro período houve efeito linear decrescente para CPB (0,141; 0,132; 0,136; 0,151 e 0,148 kg/dia) e efeito quadrático no CMM (0,050; 0,043; 0,049; 0,055 e 0,058 kg/dia).

Com relação ao segundo período houve efeito quadrático no CMS (1,110; 1,153; 1,179; 1,254 e 1,109 kg/dia), CMO (1,056; 1,082; 1,099; 1,167 e 1,033

kg/dia), CFDN (0,188; 0,192; 0,221; 0,205 e 0,192 kg/dia) e CMM (0,054; 0,071; 0,079; 0,086 e 0,079 kg/dia). Esse aumento no consumo apenas durante o segundo período pode ser atribuído à adaptação dos microrganismos ruminais a adição de glicerina bruta na dieta.

Donkin e Doane (2007) observaram efeito negativo no consumo de vacas leiteiras durante a primeira semana recebendo dieta com glicerol. Entretanto, não foi verificado efeito nas semanas seguintes. Segundo os autores, o aumento no consumo após os sete primeiros dias sugere que para adicionar glicerol à dieta é necessário realizar um período de adaptação gradual de inclusão. Da mesma forma Donkin et al. (2009) relataram que houve interação entre tratamento e semana para a ingestão de matéria seca de vacas em lactação e observaram queda no consumo durante a primeira semana experimental. Os autores sugeriram que a flutuação no consumo é transitória e observada apenas quando a de inclusão de glicerol excede 10% na MS, o que corrobora com as hipóteses levantadas no presente trabalho, de que é necessário um período de adaptação ruminal a inclusão de glicerol na dieta.

Outra razão para os efeitos serem observados apenas no segundo período experimental seria em relação à fase de vida dos cordeiros. Fatores como estresse causado pela desmama precoce (60 dias), curto espaço de tempo entre desmame e início do confinamento e mudança no tipo de dieta consumida pelo animal, podem ter influenciado as respostas durante o primeiro período experimental. Sant'anna e Costa (2010) reportaram que as condições e eventos estressantes a que os animais são submetidos no sistema produtivo influenciam diretamente questões fisiológicas, comportamentais, adaptativas e, conseqüentemente, parâmetros zootécnicos e produtivos. Broom e Johnson (1993) complementaram, dizendo que os ovinos são caracterizados pela intensa ligação materno-filial, sendo que o desmame artificial se torna um dos principais eventos estressantes ao longo da vida de um cordeiro.

A inclusão de glicerina bruta não afetou a atividade da enzima AST e gama-GT, demonstrando que a glicerina bruta contendo 397,0 mg de metanol/kg não prejudica a saúde hepática.

Tabela 9 – Peso corporal e desempenho dos cordeiros alimentados com dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta em substituição parcial ao milho

Variáveis	Dietas ¹					EPM ²	Valor de P ³			
	G0	G5	G10	G15	G20		L	Q	P	Trat*Per
Peso Inicial, kg	22,17	22,21	22,07	22,44	22,05	0,52	0,91	0,72	-	-
Peso Médio, kg	29,33	29,33	29,28	29,15	28,44	0,71	0,59	0,48	-	-
Peso Final, kg	38,88	38,67	39,00	39,22	38,17	0,91	0,54	0,97	-	-
GMD, kg/dia	0,29	0,29	0,30	0,31	0,28	<0,01	0,67	0,59	<0,01	0,21
CMS, kg/dia	1,03	1,02	1,04	1,08	1,00	0,03	0,93	0,25	<0,01	<0,01
CMSPC, %	3,50	3,43	3,47	3,52	3,43	0,03	0,89	0,97	<0,01	0,08
CMSPM, g/dia	81,08	79,60	80,66	81,97	79,32	0,73	0,85	0,78	0,05	0,05
CFDN, kg/dia	0,17	0,17	0,18	0,17	0,16	<0,01	0,79	0,07	<0,01	<0,01
CPB, kg/dia	0,16	0,15	0,16	0,17	0,16	<0,01	0,20	0,69	<0,01	<0,01
CMO, kg/dia	0,98	0,96	0,97	1,01	0,93	0,02	0,57	0,29	<0,01	<0,01
CMM, kg/dia	0,05	0,06	0,06	0,07	0,07	<0,01	<0,01	0,06	<0,01	<0,01
EA, GMD:CMS	0,28	0,28	0,29	0,28	0,28	<0,01	0,77	0,64	0,02	0,17
AST (u/L)	54,62	47,28	49,28	52,01	51,39	0,91	0,83	0,13	<0,01	0,56
GGT (u/L)	36,60	40,99	35,41	43,17	38,56	0,80	0,42	0,60	<0,01	0,89

¹G0 = dieta sem adição de glicerina bruta; G5 = adição de 5% de glicerina bruta; G10 = adição de 10% de glicerina bruta; G15 = adição de 15% de glicerina bruta; G20 = adição de 20% de glicerina bruta. ²EPM = Erro padrão da média. ³L = efeito linear; Q = efeito quadrático; P = efeito de período; Trat*Per = efeito da interação entre tratamento e período. ⁴GMD = ganho médio diário de peso corporal; CMS = consumo de matéria seca; CMSPC = consumo de matéria seca em porcentagem do peso corporal; CMSPM = consumo de matéria seca por peso metabólico; CFDN = consumo de fibra em detergente neutro; CPB = consumo de proteína bruta; CMO = consumo de matéria orgânica; CMM = consumo de matéria mineral; EA = eficiência alimentar; AST = aspartato aminotransferase; GGT = gama glutamil-transferase.

Pol e Demeyer (1988) demonstraram que a infusão contínua de metanol (1 mol L⁻¹) em uma taxa de 10 mL por hora no rúmen de ovinos foi completamente convertido a metano. Lage et al. (2013) afirmaram que o alto risco associado ao consumo de metanol presente na glicerina bruta por ruminantes não é esperado, pois o metano é produzido naturalmente no ambiente ruminal a partir da digestão da pectina e outros compostos (POL; DEMEYER, 1988). Portanto, a glicerina bruta contendo teores de metanol abaixo de 0,1% não causa prejuízos à saúde hepática dos cordeiros recebendo até 20% de glicerina bruta.

Não houve efeito da inclusão de glicerina bruta nos parâmetros de carcaça avaliados (Tabela 10). Isso é explicado pelo peso corporal ao abate semelhante dos animais entre os tratamentos.

De acordo com Mach et al. (2009), a inclusão de glicerina bruta reduziria a proporção acetato:propionato no rúmen, o que resultaria em maior proporção molar de propionato, o qual é precursor de glicose. Somado a isso, o fato do glicerol poder ser convertido à glicose no fígado, era de se esperar aumento nas concentrações de insulina e maior lipogênese, influenciando assim as características de carcaça. A glicose contribui para a lipogênese nos ruminantes como fonte de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida (NADPH) e de glicerol (ANNISON; ARMSTRONG, 1970). Bines e Hart (1984) observaram que elevadas concentrações de propionato aumentaram os teores sanguíneos de insulina, aumentando a síntese proteica e lipogênese.

Como os animais pertenciam ao mesmo grupamento genético, não houve efeito no desempenho, pois o milho é fonte energética rica em amido, conseqüentemente, um precursor gliconeogênico. Desta forma, a ausência de efeito dos tratamentos pode ser justificada. Por outro lado, devido ao fato da glicerina ser rapidamente convertida a propionato no rúmen (JOHNS, 1953) e pela queda na relação acetato:propionato em cordeiros alimentados com a glicerina bruta, Gunn et al. (2010) sugerem ser esperado efeito na deposição total de gordura, assim como na gordura subcutânea e espessura da parede corporal.

Drouillard (2012) afirmaram que apesar das evidências relacionadas ao aumento na síntese de propionato com a suplementação de glicerina bruta, aparentemente tende a resultar em supressão do acúmulo de gordura intramuscular e de acordo com Elam et al. (2008) também diminuiu a deposição de gordura intramuscular no músculo *longissimus dorsi* em bovinos.

Tabela 10 – Peso ao abate e características de carcaça de cordeiros alimentados com dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta em substituição parcial ao milho

Variáveis ⁴	Dietas ¹					EPM ²	Valor de P ³	
	G0	G5	G10	G15	G20		L	Q
PCA, kg	38,69	39,00	39,81	40,40	39,39	0,73	0,34	0,41
PCQ, kg	19,31	20,10	19,96	20,73	20,24	0,42	0,16	0,43
RCQ, %	49,80	51,55	50,75	51,26	51,33	0,27	0,06	0,24
PCF, kg	19,23	20,00	19,89	20,57	20,13	0,41	0,17	0,42
RCF, %	49,58	51,29	50,62	50,88	51,05	0,26	0,08	0,21
PR, %	0,45	0,48	0,35	0,75	0,55	0,06	0,34	0,92
AOL, cm ²	14,04	14,05	13,81	15,62	14,46	0,26	0,13	0,87
EGS, mm	2,75	3,24	2,73	2,66	2,15	0,15	0,08	0,18
EPC, mm	14,45	16,54	15,12	15,82	15,29	0,28	0,55	0,11

¹G0 = dieta sem adição de glicerina bruta; G5 = adição de 5% de glicerina bruta; G10 = adição de 10% de glicerina bruta; G15 = adição de 15% de glicerina bruta; G20 = adição de 20% de glicerina bruta.

²EPM = Erro padrão da média.

³L = efeito linear; Q = efeito quadrático.

⁴PCA = peso da carcaça ao abate; PCQ = peso da carcaça quente; RCQ = rendimento da carcaça quente; PCF = peso da carcaça fria; RCF = rendimento da carcaça fria; PR: perda por resfriamento; AOL = área de olho de lombo; EGS = espessura de gordura subcutânea; EPC = espessura da parede corporal.

4.4 Conclusão

A glicerina bruta pode ser adicionada em até 20% na MS em substituição ao milho sem prejudicar o desempenho e as características de carcaça.

A inclusão de glicerina bruta com até 397,0 mg de metanol/kg não causa efeito deletério ao metabolismo hepático.

Referências

ANNISON, E.F.; ARMSTRONG, D.G. Volatile fatty acid metabolism and energy supply. In: PHILLIPSON, A.T. (Ed.) Physiology of digestion and metabolism in the ruminant, INTERNATIONAL SYMPOSIUM., 3., 1970. Cambridge. **Proceedings...**Cambridge: Oriel Press, 1970. p. 422-437.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15th ed. Arlington, 1990. v.1.

_____. **Official methods of analysis**. 16th ed. Gaithersburg, 1997. 1141p.

BINES, J.A.; HART, I.C. The response of plasma insulin and other hormones to intraruminal infusion of VFA mixtures in cattle. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v.64, p.304, 1984.

BROOM D.M.; JOHNSON K.G. **Stress and Animal Welfare**. Ed. Chapman e Hall, 1993. 211p,

DONKIN, S.S.; DOANE, P. Glycerol as a feed ingredient in dairy rations. (Ed.), . TRI-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE, 2007. Ohio, **Proceedings...** Ohio,, 2007. p. 97-103.

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

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

DROUILLARD, J.S. Utilization of crude glycerin in beef cattle. In:MAKKAR, H.P.S. (Ed.). **Biofuel co-products as livestock feed – Opportuniries and challenges**. Roma, 2012. p. 155-161.

ELAM, N.A.; ENG, K.S.; BECHTEL, B.; HARRIS, J.M.; CROCKER, R. Glycerol from biodiesel production: considerations for feedlot steers. **Southwest Nutrition Conference**. Tempe, AZ, 2008.

GONÇALVES, B.R.L.; PEREZ, L.; ÂNGELO A.C.D. Glicerol: uma inovadora fonte de energia proveniente da produção de biodiesel. 22 May. Available at: <http://www.advancesincleanerproduction.net/second/files/sexoes/5a/3/B.%20R.%20L.%20Gon%C3%A7alves%20-%20Resumo%20Exp.pdf>. [Accessed July 01, 2012], 2009.

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

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

KREHBIEL, C.R. Ruminal and physiological metabolism of glycerin. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.86(E-Suppl. 2), p.392. (Abstr.), 2008.

LAGE, J.F.; PAULINO, P.V.R.; PEREIRA, L.G.R; DUARTE, M.S.; VALADARES FILHO, S.C.; OLIVEIRA, A.S.; SOUZA, N.K.P.; LIMA, J.C.M. Carcass characteristics of feedlot lambs fed crude glycerin contaminated with high concentrations of crude fat. **Meat Science**, Barking, v.96, p. 108-113, 2013.

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

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

MUSSELMAN, A.F.; VAN EMON, M.L.; GUNN, P.J.; RUSK, C.P.; NEARY, M.K.; LEMENAGER, R.P.; LAKE, S.L. Effects of crude glycerin on feedlot performance and carcass characteristics of market lambs. **American Society of Animal Science**, Champaign, v.59, p.353–355, 2008.

NOTTER, D.R.; GREINER, S.P.; WAHLBERG, M.L. Growth and carcass characteristics of lambs sired by Dorper and Dorset rams. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.82, n.5, p.1323-1328, 2004.

POL, A.; DEMEYER, D. I. Fermentation of methanol in the sheep rumen. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.54, n.3, p.832–834, 1988.

SANT'ANNA A.C.; PARANHOS DA COSTA M. J.R.P. Avaliação do bem-estar de animais de produção. **Ciência Veterinária dos Trópicos**, Recife, v. 13, suplemento 1, p. 29-35, 2010.

SAS INSTITUTE. **Sas systems for Windows**: version 9. Cary, 2002.

SÜDEKUM, K.H. Co-products from biodiesel productin. In: GARNSWORTHY, P.C.; WISEMAN, J.(Ed.). **Recent Advances in animal nutrition**. Nottingham University Press. Nottingham, England, 2008. p. 210-219.

TERRÉ, M.; NUDA A.; CASADO A.; BACH, A. The use of glycerine in rations for light lamb during the fattening period. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v.164 p. 262-267, 2011.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.74, p.3583-3597, 1991.

5 SUBSTITUIÇÃO PARCIAL DO MILHO PELA GLICERINA BRUTA: DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES, METABOLISMO RUMINAL E BALANÇO DE NITROGÊNIO

Resumo

Cinco borregos não castrados, Dorper x Santa Inês, com peso corporal médio de $59,7 \pm 1,3$ kg, canulados no rúmen e distribuídos em delineamento experimental quadrado latino 5 x 5 foram utilizados para avaliar os efeitos da glicerina bruta sobre os parâmetros ruminais, a digestibilidade dos nutrientes e o metabolismo de nitrogênio. As dietas foram compostas por 10% de feno de “coastcross” e 90% de concentrado e foram formuladas para serem isonitrogenadas ($15,9 \pm 0,2\%$ de PB, na MS), sendo o ajuste proteico realizado com a adição de farelo de soja. Os teores de inclusão de glicerina bruta (83,6% glicerol) foram: 0, 5, 10, 15 ou 20% na MS, originando os tratamentos G0, G5, G10, G15 e G20, respectivamente. As rações foram ofertadas uma vez por dia, *ad libitum*, e após 15 dias de adaptação foram utilizados quatro dias para a colheita de amostras para avaliar o consumo de água, ingestão e digestibilidade dos nutrientes. No 19º dia foi realizada a colheita de fluido ruminal antes da oferta das rações 2, 4, 6, 8, 10 e 12 horas após, para determinação do perfil de AGCC, pH e nitrogênio amoniacal. A inclusão de glicerina bruta nas dietas experimentais não afetou o consumo de água, consumo de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO) e proteína bruta (PB). Houve redução linear na ingestão de FDN e aumento linear na ingestão de MM ($P < 0,05$). Houve aumento linear na digestibilidade da MS e MO. A inclusão de glicerina bruta causou redução linear na concentração do acetato, relação C2:C3 e AGCC total, sendo que, essas respostas ocasionaram aumento linear no pH ruminal. O propionato não foi afetado pela substituição parcial do milho pela glicerina bruta, bem como não houve diferença nas concentrações dos ácidos butírico, isobutírico e isovalérico e do nitrogênio amoniacal. Houve efeito cúbico para o ácido valérico. Com relação ao balanço de nitrogênio, não houve efeito da inclusão de glicerina bruta sobre as variáveis analisadas. A glicerina bruta pode substituir até 20%(na MS) do milho em dietas de borregos, melhorando a digestibilidade da MS e MO. Além disso, demonstrou ser um precursor de propionato equivalente ao milho, porém diminuiu as concentrações de acetato e AGCC total. Quando o ajuste proteico é realizado alterando apenas os teores de farelo de soja, não há impacto no balanço de nitrogênio com a adição de glicerina bruta na dieta.

Palavras-chave: AGCC; Glicerol; pH; Propionato

Abstract

Five Dorper x Santa Inês ram lambs (BW 59.7 ± 1.3 kg), cannulated in the rumen, were used in a 5 X 5 Latin Square design to determine the effects of using crude glycerin on ruminal constituents, diet digestibility and nitrogen metabolism. Animals were fed a TMR composed of 90% concentrate and 10% coastcross hay. The diets were isonitrogenous ($15.9 \pm 0.2\%$ CP, DM basis) and the crude protein content was adjusted by increasing soybean meal. Crude glycerin (83.6% glycerol, DM basis) was included in the ration at 0%, 5%, 10%, 15% or 20% (DM basis),

corresponding to the experimental diets G0, G5, G10, G15 and G20, respectively. The diet was fed *ad libitum*, once daily. Every period of the experiment lasted 19 d. The first 15 d were used to adapt the ram lambs with the diets and the remaining 4 d were used for data collection. In the last day of the period, rumen fluid was collected every two hours, starting prior feeding, 2, 4, 6, 8, 10 and 12 hours after feeding. Short-chain fatty acid (SCFA) profile, pH and ammonia nitrogen concentration were determined. Crude glycerin did not affect water consumption, DM, OM and CP intake. There was linear decreased on NDF intake and a linear increase in MM intake. Feeding crude glycerin increased DM and OM digestibility but did not affect NDF and CP. Crude glycerin decreased acetate, acetate:propionate ratio, total SCFA and showed a linear increase on pH. Propionate, butyrate, isobutyrate and isovalerate were not affected by the experimental diets. However, there was a cubic effect for valerate acid. Crude glycerin did not affect nitrogen metabolism. Replacing corn by crude glycerin up to 20% of dietary DM increased DM and OM digestibility, maintained propionate and decreased acetate and total SCFA. When soybean meal was used to adjust the diet protein level, there were no changes on nitrogen metabolism.

Keywords: SCFA; Glycerol; pH; Propionate

5.1 Introdução

No Brasil, a partir do ano de 2010, tornou-se obrigatório a inclusão de 5% de biodiesel no diesel comum, de acordo com a resolução CNPE n.6/2009, o que impulsionou a produção desta matriz energética no país. Essa situação levantou um questionamento sobre qual o destino a ser dado ao co-produto gerado, a glicerina bruta. Devido ao fato do seu principal componente ser o glicerol, houve grande interesse em avaliar a inclusão deste co-produto nas dietas de ruminantes.

Pesquisas têm estimado o valor energético do glicerol, principal componente da glicerina, para bovinos, e admite-se que os valores são similares ao do milho grão. Com isso abre-se espaço para o uso desse co-produto em dietas de ruminantes, sendo necessário avaliar não apenas o desempenho animal, mas também o impacto da inclusão sob a fermentação ruminal, digestibilidade de nutrientes e parâmetros sanguíneos.

Existem relatos que o glicerol, pode ser absorvido pela parede ruminal e convertido a glicose no fígado, elevando assim os teores de glicose nos ruminantes (RÉMOND et al., 1993). Também pode ser fermentado a propionato, sendo este um precursor gliconeogênico (CHUNG et al., 2007) ou ainda passar pelo rúmen e ser absorvido no intestino delgado (KREHBIEL, 2008). Bergner et al. (1995) verificaram que a maior parte do glicerol é convertido a propionato, *in vitro*, ao notaram a

ausência de radioatividade no metano, acetato e lactato quando utilizado glicerol marcado com carbono 14. Drouillard (2008) relatou que a inclusão de glicerol nas dietas de ruminantes modifica a relação acetato:propionato, pois ela aumenta as concentrações de propionato no rúmen. Outros autores reportaram que o glicerol pode ainda resultar na produção de outros metabolitos, como por exemplo, o ácido láctico e succínico (HOBSON e MANN, 1961; STEWART e BRYANT, 1988).

Outro questionamento é sobre o efeito do glicerol sobre a degradação da fibra. Hess et al. (2008) observaram que, “*in vitro*”, 1% de glicerol puro não afetou o crescimento, adesão e atividade celulolítica de duas espécies de bactérias responsáveis pela fermentação da celulose. Porém, quando adicionado 5% de glicerol, o crescimento e a atividade celulolítica foram inibidos.

O objetivo do presente estudo foi avaliar a fermentação ruminal, balanço de nitrogênio e digestibilidade aparente dos nutrientes das dietas com alta proporção de concentrado e com teores crescentes de glicerina bruta em substituição ao milho para borregos.

5.2 Material e métodos

5.2.1 Animais e instalações experimentais

O presente estudo foi conduzido nas instalações do Sistema Intensivo de Produção de Ovinos e Caprinos (SIPOC) do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, localizada em Piracicaba - SP (22° 42' 24" S e 47° 37' 53" O).

Foram utilizados cinco borregos F1 (Dorper X Santa Inês), não castrados, canulados no rúmen, com peso médio de $59,7 \pm 1,3$ kg e aproximadamente 7 meses de idade. Um mês antes do início do experimento os animais foram submetidos à cirurgia para inserção das cânulas. Após a cicatrização iniciou-se o experimento. Os animais permaneceram alojados em sistema de “*tie stall*” durante o período de adaptação e durante as coletas foram alocados em gaiolas para ensaio de metabolismo com dimensões de 1,30 X 0,55 m, providas de cocho, bebedouro e sistema para colheita de urina. As gaiolas permaneceram em ambiente coberto, ao abrigo de luz solar direta e chuva. Os animais foram everminados com moxidectin

1% (Cydectin, Fort Dodge Saúde Animal, Campinas, São Paulo, Brasil) na dosagem de 1 mL/50 kg de peso corporal antes do início do experimento.

5.2.3 Delineamento experimental, tratamentos e manejo alimentar

O experimento teve duração de 100 dias, sendo divididos em cinco períodos de 20 dias, dos quais os primeiro 15 dias foram destinados à adaptação dos animais às dietas experimentais, quatro dias para mensuração do CMS, colheita de urina e fezes e o último dia destinado à colheita de conteúdo ruminal. Os animais foram distribuídos em um delineamento experimental quadrado latino 5 x 5.

A glicerina bruta (Tabela 11) utilizada foi advinda da produção de biodiesel a partir do óleo de soja (Caramuru Alimentos S.A. Itumbiara, GO, Brasil). As dietas experimentais foram definidas pela substituição parcial do milho pela glicerina bruta (Tabela 12) e formuladas através do programa “Small Ruminant Nutrition System 6.0”. As dietas foram constituídas de 10% de volumoso (feno de “coastcross”) e 90% de concentrado na matéria seca e foram formuladas para serem isonitrogenadas. A correção dos valores de proteína bruta à medida que foi adicionado glicerina, foi realizada aumentando os teores de farelo de soja. A inclusão de glicerina bruta na ração foi na proporção de 0, 5, 10 15 e 20% na MS, dando origem aos tratamentos G0, G5, G10, G15 e G20, respectivamente (Tabela 12).

Tabela 11 – Composição química da glicerina bruta

Variáveis	% na MS
MS	79,3
Glicerol	83,6
Extrato etéreo	0,1
Sódio	1,8
Metanol	397,0 mg/kg

O milho e o feno foram moídos utilizando triturador (Nogueira® DPM – 4, Itapira, São Paulo, Brasil), providos de peneira com crivos de 10 mm. Posteriormente foram misturados ao farelo de soja, glicerina bruta, ureia, calcário, cloreto de amônio, mistura mineral e monensina sódica (Elanco do Brasil, São Paulo, Brasil) utilizando-se misturador horizontal com capacidade para 500 kg (Lucato®, Limeira, Brasil). A

monensina sódica foi adicionada na proporção de 25 mg/kg de matéria natural. A cada partida de ração uma amostra foi colhida, conservada a -18 °C para posterior análise.

Diariamente as rações foram pesadas em balança eletrônica, com precisão de 0,1 gramas, (Marte AC 10K) e ofertadas “*ad libitum*” às 8 horas da manhã. No dia seguinte, no mesmo horário, as sobras foram pesadas para ajustar a oferta de ração, não se permitindo sobras superiores a 10% da quantia ofertada.

Tabela 12 – Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais, % da MS

	Dietas ¹				
	G0	G5	G10	G15	G20
Ingredientes					
Feno de “coastcross”	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Farelo de soja	11,0	12,1	13,3	14,4	15,4
Glicerina bruta	0,0	5,0	10,0	15,0	20,0
Milho moído	74,8	68,7	62,5	56,4	50,4
Ureia	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Calcário	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7
Sal mineral ²	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Cloreto de amônio	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Composição química					
Matéria seca (% da MN)	90,5	89,5	87,8	86,8	85,8
Proteína bruta	15,7	16,5	16,3	15,4	15,8
Fibra em detergente neutro	17,8	18,1	16,1	15,0	15,6
Matéria orgânica	94,8	94,4	93,7	93,3	93,1
Matéria mineral	5,2	5,6	6,2	6,7	6,8

¹G0 = dieta sem adição de glicerina bruta; G5 = adição de 5% de glicerina bruta; G10 = adição de 10% de glicerina bruta; G15 = adição de 15% de glicerina bruta; G20 = adição de 20% de glicerina bruta.

²Composição: Ca 13,4%, P 7,5%, Mg 1%, S 7%, Cl 21,8%, Na 14,5%, Mn 1100 mg/kg, Fe 500 mg/kg, Zn 4600 mg/kg, Cu 300 mg/kg, Co 40 mg/kg, I 55 mg/kg, Se 30 mg/kg.

5.2.4 Digestibilidade dos nutrientes

Durante os dias 16, 17, 18 e 19, às 8 horas da manhã, foram pesadas a oferta e sobra, para obtenção do CMS de cada animal. Também foi quantificado o total de fezes produzido em 24 horas. Para a colheita das fezes, utilizou-se arreios providos de bolsas coletoras de fezes, a fim de evitar a mistura das fezes com a urina.

Amostras do alimento ofertado, das sobras e das fezes (10% da quantia total) foram colhidas e armazenadas a -18°C. As análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição Reprodução e Animal (LNRA) e no Laboratório de Bromatologia, ambos do Departamento de Zootecnia da ESALQ - USP. As amostras de fezes foram descongeladas, secas em estufas de ventilação forçada a 55°C por 96 horas. As amostras das ofertas, sobras e fezes foram processadas em moinho tipo Wiley com peneiras com crivos de 1 mm. Foi realizada a determinação de matéria seca (MS) por meio de secagem das amostras em estufa a 105° C por 24 horas e matéria mineral (MM) através da incineração das amostras em mufla a 550°C por 4 horas (AOAC, 1990). Para a determinação do nitrogênio total foi utilizado o aparelho Leco FP528 (Leco Corporation, St. Joseph, MI), conforme a AOAC (1997), e fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) conforme Van Soest, Robertson e Lewis (1991), utilizando α -amilase termoestável e sulfito de sódio, em aparelho Ankom 200 (Ankom Tech. Corp., Fairport, NY).

A digestibilidade aparente dos nutrientes foi calculada a partir da seguinte fórmula:

$$\text{DATT}(\%) = \frac{(\text{MSC} \cdot \text{NMS}) - (\text{MSF} \cdot \text{NMF})}{(\text{MSC} \cdot \text{NMS})} \cdot 100$$

MSC = material seca consumida;

MSF = matéria seca fecal;

NMF = porcentagem do nutriente na matéria seca fecal;

NMS = porcentagem do nutriente na matéria seca consumida.

5.2.5 Balanço de nitrogênio

Do 16° ao 19° dia também foi realizada a colheita total de urina. As gaiolas utilizadas foram projetadas para essa finalidade, sendo que, embaixo de cada uma delas foi colocado um recipiente plástico contendo solução de ácido clorídrico a

50%, a fim de manter o pH da urina abaixo de 3, evitando perda de nitrogênio. Diariamente o total colhido foi medido e homogeneizado, posteriormente filtrado, amostrado (10%) e armazenado em frascos de plástico mantidos a -18°C. O nitrogênio da urina foi determinado em micro Kjeldahl segundo a AOAC (1990).

O balanço de nitrogênio foi calculado através das seguintes fórmulas:

Nitrogênio absorvido (g/d) = N consumido – N fecal

Nitrogênio retido (g/d) = N absorvido – N urinário

Balanço de N (% N absorvido) = (N retido / N absorvido) * 100

Balando de N (% N ingerido) = (N retido / N ingerido) * 100

5.2.6 Consumo de água

Durante os dias 16, 17, 18 e 19 também foi realizada a mensuração do consumo de água. Diariamente a oferta de água foi pesada em baldes plásticos e ao final de 24 horas a sobra foi novamente pesada para cálculo do consumo. Além disso, um balde com as mesmas características dos usados nas gaiolas foi utilizado para mensurar a perda por evaporação. Depois de cheio, o balde foi colocado no mesmo ambiente onde os animais permaneceram e após 24 horas foi pesado. Pela diferença entre o peso inicial e final foi calculado a perda por evaporação. Esse valor foi usado para correção dos dados de consumo de água.

5.2.7 Colheita e análise do fluido ruminal

As amostras de conteúdo ruminal foram obtidas no 20º dia de cada período, com intervalos de duas horas entre cada colheita, sendo a hora zero o momento antes da oferta de alimento e 2, 4, 6, 8, 10 e 12 horas após o fornecimento da dieta.

Uma amostra representativa do conteúdo ruminal de cada animal foi colhido via cânula, que em seguida foi filtrado em tecido de algodão. A fase sólida do conteúdo ruminal que permaneceu no tecido foi devolvida ao rúmen. A partir do fluido obtido da filtragem procedeu-se a determinação do pH em potenciômetro digital (DIGIMED® DM20). Dessa mesma amostra, retirou-se 2 alíquotas de 20 mL que foram armazenadas em frascos acrílicos e congelados a -20°C para posteriores análises de AGCC e N-NH₃.

Para a determinação de AGCC, 1,6 mL do fluido ruminal adicionado de 0,4 mL de solução 3:1 de metafosfórico 25% com ácido fórmico 98-100% e 0,2 mL de solução de ácido 2-etil-butírico 100 mM (padrão interno) foram centrifugados a 15.000 g, durante 15 minutos e a 4°C. Posteriormente, 1,2 mL de cada amostra foram transferidos para *vials* cromatográficos. Desse extrato injetou-se 1 µL em cromatógrafo gasoso (CG HP 7890A; Injetor HP 7683B, Agilent Technologies) equipado com coluna capilar HP-FFAP (1909F-112; 25 m; 0,32 mm; 0,5 µm; JeW Agilent Technologies). A injeção foi realizada de maneira automática. O gás de arraste utilizado foi o H₂, mantido em fluxo de 31,35 mL/min. A temperatura do injetor e detector foi de 260°C. O tempo total da análise cromatográfica foi de 16,5 minutos, dividido em três rampas de aquecimento: 80°C (1min), 120°C (20°C/min; 3min) e 205°C (10°C/min; 2 min). A concentração dos AGCC (mM) foi determinada com base em uma curva de calibração externa.

A concentração de N-NH₃ foi determinada pelo método colorimétrico descrito por Chaney e Marbach (1962), adaptado para leitor de microplaca (BIO –RAD, Hercules, CA), utilizando filtro para absorvância de 550 nm.

5.2.8 Parâmetros sanguíneos

As amostras de sangue foram colhidas da veia jugular no 20º dia de cada período, com intervalos de duas horas entre cada colheita, sendo a hora zero o momento antes da oferta de alimento e 2, 4, 6, 8, 10 e 12 horas após o fornecimento da dieta. As colheitas foram realizadas em tubos tipo Vacutainer® com gel separados inerte para soro. Logo após a colheita, os tubos foram centrifugados a 4.000 x g a 4°C por 15 minutos e alíquotas do soro obtido foram colocados em três tubos Eppendorf® de 1,5 mL, armazenados a -18°C e posteriormente realizada as análises de glicose.

Para determinar a concentração sérica de glicose foi utilizado o método descrito por Barham e Trinder (1972), em analisador bioquímico automático Lysis, utilizando-se kit comercial da marca Dyasis®.

5.2.9 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o Procedimento MIXED do SAS (2002), e considerado efeito significativo quando $P \leq 0,05$. Todos os dados foram submetidos ao teste de Shapiro Wilk para verificar a normalidade dos resíduos, a retirada de outliers e a homogeneidade das variâncias pelo teste de Levene. O conjunto de dados que não respeitou tais premissas foi submetido às transformações logarítmicas, inversa ou raiz quadrada.

Os dados relacionados à fermentação ruminal foram analisados como medidas repetidas no tempo. O modelo estatístico empregado foi: $Y_{ijklr} = \mu + A_i + T_j + P_k + H_r + (TH)_{jr} + E_{ijklr}$, onde μ = média geral; A_i = efeito de animal ($i = 1$ a 5); T_j = efeito de tratamento ($j = 1$ a 5); P_k = efeito de período ($k = 1$ a 5); H_r = efeito de hora ($r = 0, 2, 4, 6, 8, 10$ e 12); $(TH)_{jr}$ = efeito da interação tratamento x hora, e E_{ijklr} = erro residual. Período e animal foram incluídos como efeitos aleatórios. As matrizes de covariância “compound symmetry, heterogeneous compound symmetry, autoregressive, heterogeneous autoregressive, unstructured, banded, variance components, toeplitz e heterogeneous toeplitz” foram testadas e definidas de acordo com o menor valor obtido para “Akaike’s Information Criterion” (AIC). As médias dos tratamentos foram obtidas através do comando LSMEANS. O conjunto de dados foi avaliado por meio de polinômios ortogonais linear e quadrático. Os efeitos de hora e interação tratamento x hora foram definidos pelo teste F da análise de variância.

Os dados de digestibilidade aparente dos nutrientes foram analisados através do modelo: $Y_{ijk} = \mu + A_i + T_j + P_k + E_{ijk}$, onde μ = média geral; A_i = efeito de animal ($i = 1$ a 5); T_j = efeito de tratamento ($j = 1$ a 5); P_k = efeito de período ($k = 1$ a 5), e E_{ijk} = erro residual. Período e animal foram incluídos como efeitos aleatórios. Foram testadas varias matrizes e definidas para cada conjunto de dados, utilizando-se a que apresentou menos valor “fit statistics – (AIC)”. As médias dos tratamentos foram obtidas através do comando LSMEANS. O conjunto de dados foi avaliado por meio de polinômios ortogonais linear e quadrático.

5.3 Resultados e discussão

A inclusão de glicerina bruta nas dietas experimentais não afetou o consumo de água (Tabela 13). O resultado obtido foi contrário ao observado por Pethick et al.

(2000) que ao adicionar uma mistura de 3,5% de glicerol e 1,5% de propilenoglicol na dieta de cordeiros o consumo de água dobrou. Schröder e Südekum (1999) também relataram que os animais aumentaram o consumo de água quando a glicerina bruta foi adicionada a dieta.

Não houve efeito da inclusão de glicerina bruta sobre o CMS. Porém, o consumo de FDN reduziu linearmente ($0,2837 - 0,0032 \cdot \text{trat}$; $r^2 = 0,3073$). Essa diminuição no consumo de FDN é explicada pela redução do teor de FDN das rações à medida que se acrescenta glicerina bruta (Tabela 12), visto que a glicerina bruta não apresenta FDN em sua composição (Tabela 11).

A CMM aumentou linearmente ($0,0766 + 0,0011 \cdot \text{trat}$; $r^2 = 0,2529$) com a inclusão da glicerina bruta. Isso se deve a utilização de catalizadores, como o hidróxido de sódio, na reação de transesterificação durante o processo de produção de biodiesel.

Houve aumento linear na digestibilidade da MS ($82,8251 + 0,1523 \cdot \text{trat}$; $r^2 = 0,2690$) e MO ($84,4228 + 0,1298 \cdot \text{trat}$; $r^2 = 0,2108$). Não houve efeito dos tratamentos sobre a digestibilidade da FDN e PB (Tabela 13).

O aumento na digestibilidade da MS e MO pode ser justificado com as possíveis rotas metabólicas da glicerina bruta, tornando-a extensivamente utilizada. Krehbiel (2008) relatou que o glicerol, principal componente da glicerina, pode seguir três rotas metabólicas: passagem para o intestino delgado, diretamente absorvido pelo epitélio ruminal, metabolizado no fígado, tendo como destino final a gliconeogênese, pela ação da enzima glicerol quinase, que o converte a glicose, ou convertido a propionato no rúmen, que por sua vez é metabolizado a oxaloacetato no fígado, através do ciclo de Krebs, e por fim utilizado para produção de glicose pela via gliconeogênica. Há relatos de que o glicerol pode resultar na produção de outros metabolitos, como por exemplo, o ácido láctico e succínico (HOBSON e MANN, 1961; STEWART e BRYANT, 1988).

Schröder e Südekum (1999), fornecendo 46, 98, 116 e 155 g de glicerol na MS em dietas com baixo teor de amido para ovelhas, verificaram ausência ou efeito positivo na digestibilidade da matéria orgânica, amido e componentes da parede celular. Porém, quando teores similares de inclusão de glicerol foram utilizados em dietas com alto teor de amido verificaram redução na digestibilidade da fração fibrosa, resultado que é contrário ao obtido nesse trabalho.

Tabela 13 – Consumo e digestibilidade dos nutrientes pelos borregos alimentados com dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta em substituição parcial ao milho

Variáveis ⁴	Dietas ¹					EPM ²	Valor de P ³	
	G0	G5	G10	G15	G20		L	Q
Consumo								
Água, L	4,767	5,02	5,01	5,25	4,56	0,34	0,89	0,32
MS, kg	1,56	1,51	1,45	1,43	1,47	0,04	0,24	0,34
FDN, kg	0,29	0,28	0,24	0,22	0,24	<0,01	<0,01	0,06
PB, kg	0,25	0,25	0,24	0,22	0,23	<0,01	0,12	0,76
MO, kg	1,48	1,43	1,36	1,33	1,38	0,04	0,13	0,31
MM, kg	0,08	0,08	0,09	0,09	0,10	<0,01	<0,01	0,90
Digestibilidade, %								
MS	83,3	82,5	84,2	85,4	85,7	0,44	<0,01	0,52
FDN	55,9	54,5	56,3	56,7	58,0	1,84	0,54	0,75
PB	82,4	81,7	82,8	81,5	83,6	0,51	0,44	0,20
MO	84,8	84,3	85,9	86,5	86,8	0,43	<0,01	0,77

¹G0 = dieta sem adição de glicerina bruta; G5 = adição de 5% de glicerina bruta; G10 = adição de 10% de glicerina bruta; G15 = adição de 15% de glicerina bruta; G20 = adição de 20% de glicerina bruta.

²EPM = Erro padrão da média.

³L = efeito linear; Q = efeito quadrático.

⁴MS = matéria seca; FDN = fibra em detergente neutro; PB = proteína bruta; MO = matéria orgânica; MM = matéria mineral.

Alguns trabalhos mostram que a adição de glicerina bruta afeta o crescimento e a atividade celulolítica das bactérias e fungos ruminais (ROGER et al., 1992; PAGGI et al., 2004), logo prejudicaria a digestibilidade da fração fibrosa. Porém, é importante salientar que o amido, principal componente do milho, o qual possui elevada inclusão nas dietas utilizadas no experimento, possui efeito negativo sobre a digestibilidade da fibra (CHASE; HIBBERT, 1987). Portanto, quando a glicerina bruta é adicionada em dietas com alto teor de amido, a digestibilidade da fibra não deve ser prejudicada.

A inclusão de glicerina bruta causou uma redução linear no acetato ($48,7957 - 0,6881 \cdot \text{trat}$; $r^2 = 0,1891$), relação C2:C3 ($0,9460 - 0,0127 \cdot \text{trat}$; $r^2 = 0,1880$) e AGCC total ($105,9813 - 0,6220 \cdot \text{trat}$; $r^2 = 0,0260$) (Tabela 14). A queda na concentração ruminal de acetato pode ser atribuído a menor consumo de FDN com o aumento na inclusão de glicerina bruta nas dietas. A menor concentração de acetato explica a queda na relação C2:C3 e AGCC total.

A concentração ruminal de propionato não foi afetada pela substituição parcial do milho pela glicerina bruta. De acordo com Krehbiel (2008) as *Selenomonas spp.* são as maiores responsáveis para fermentação do glicerol e os produtos gerados são propionato, lactato, succinato e acetato. Avila et al. (2011) observaram aumento linear na concentração de propionato e redução linear no acetato, *in vitro*, quando incluíram glicerina em substituição ao grão de cevada. Consequentemente, foi observada diminuição linear da relação acetato:propionato. Da mesma forma, Drouillard (2008) afirmou que a inclusão de glicerol na dieta de ruminantes modifica a relação acetato:propionato, por ser um precursor de propionato no rúmen. Partes desses resultados corroboram com os apresentados neste trabalho, porém, não foi observado aumento no propionato, provavelmente pelo fato da glicerina bruta ter substituído o milho, que é fonte de amido, e que no rúmen aumenta a produção de propionato. Portanto, pode-se concluir que a glicerina bruta contendo 83,6% de glicerol possui o mesmo potencial de produção de propionato que o milho tipo “flint” triturado.

Tabela 14 – Concentração dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), nitrogênio amoniacal pH ruminal e glicose nos borregos alimentados com dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta em substituição parcial ao milho

Variáveis	Dietas ¹					EPM ²	Valor de P ³		
	G0	G5	G10	G15	G20		L	Q	T*H
AGCC, mM									
Acético	50,82	44,47	40,56	35,87	37,83	0,87	<0,01	0,13	0,07
Propiônico	49,73	50,97	51,13	47,05	50,90	1,35	0,92	0,96	0,61
Butírico	4,86	6,42	3,52	5,63	5,59	0,22	0,90	0,77	0,36
Isobutírico	0,44	0,36	0,39	0,33	0,35	0,01	0,15	0,59	0,43
Valérico	1,74	2,26	1,49	1,50	2,21	0,07	0,77	0,23	0,11
Isovalérico	0,49	0,37	0,54	0,47	0,62	0,02	0,15	0,24	0,44
AGCC total ⁴	106,56	104,81	98,12	91,80	97,52	1,07	0,04	0,35	0,21
C2:C3 ⁵	1,01	0,86	0,73	0,79	0,78	0,02	<0,01	0,07	0,53
pH	5,45	5,37	5,56	5,57	5,56	0,03	0,05	0,80	0,16
N-amoniacal, mg/dL	11,66	11,08	14,44	15,33	13,30	0,36	0,11	0,31	0,18
Glicemia, mg/dL	85,95	85,74	87,53	82,32	86,09	0,54	0,66	0,91	0,17

¹G0 = dieta sem adição de glicerina bruta; G5 = adição de 5% de glicerina bruta; G10 = adição de 10% de glicerina bruta; G15 = adição de 15% de glicerina bruta; G20 = adição de 20% de glicerina bruta.

²EPM = Erro padrão da média.

³L = efeito linear; Q = efeito quadrático; T*H = efeito da interação entre tratamento e hora.

⁴AGCC total = ácidos graxos de cadeia curta total

⁵C2:C3 = relação acetato:propionato.

A substituição do amido de trigo pelo glicerol aumentou a produção de propionato e reduziu a relação acetato:propionato *in vitro* (Bergner et al. 1995). Os autores ainda notaram a ausência de radioatividade no metano, acetato e lactato quando utilizado glicerol marcado com carbono 14, confirmando que, *in vitro*, a maior parte do glicerol é convertida a propionato.

Lee et al. (2011) avaliando a produção de gás, perfil de AGCC e produção de metano *in vitro*, verificaram aumento na proporção de propionato e queda na relação acetato:propionato após 24 horas de incubação. Também observaram queda na produção total de gases e metano, sem afetar a produção de AGCC. Os autores concluíram que a adição de glicerol na dieta pode aumentar a eficiência no uso da energia dos alimentos pelos ruminantes.

O pH aumentou linearmente ($5,4173 + 0,0085 \cdot \text{trat}$; $r^2 = 0,0190$) com a inclusão de glicerina bruta nas dietas. O aumento do pH é justificado pela redução linear na concentração ruminal de AGCC total, que por sua vez é explicado pela redução na concentração ruminal de acetato. De acordo com Chesson e Forsberg (1997) maiores digestibilidade da celulose e da hemicelulose, acarretam em maior produção de acetato pelas bactérias celulolíticas no rúmen. Baseado nessa afirmação, a queda linear na produção de acetato no presente experimento foi devido a diminuição linear na ingestão de FDN, visto que a digestibilidade da fração fibrosa não foi afetada pela inclusão da glicerina bruta.

Não houve efeito do aumento nos teores de glicerina bruta nas concentrações ruminais dos ácidos butírico, isobutírico, valérico e isovalérico e o nitrogênio amoniacal.

Diferente dos dados apresentados, alguns trabalhos relatam aumento na produção de ácido butírico quando adicionado glicerina bruta as dietas (RÉMOND et al., 1993; SCHRÖDER; SÜDEKUM, 1999; TRABUE et al., 2007). Terré et al. (2011) avaliaram o desenvolvimento das papilas ruminais, partindo do princípio que o butirato é o ácido graxo de cadeia curta com maior capacidade para estimular o desenvolvimento da mucosa ruminal, inibindo apoptose das células da mucosa (MENTSCHERL et al., 2001). Porém, o trabalho realizado por Terré et al. (2011) mostrou que não houve influência da adição de glicerina bruta no desenvolvimento das papilas ruminais, corroborando com os dados do presente experimento que não houve influência na concentração de ácido butírico.

Tabela 15 – Consumo e balanço de nitrogênio nos borregos alimentados com dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta em substituição parcial ao milho

Variáveis	Dietas ¹					EPM ²	Valor de P ³	
	G0	G5	G10	G15	G20		L	Q
N ingerido, g/dia	39,34	40,07	38,13	35,20	37,45	1,09	0,12	0,74
N fecal, g/dia	6,89	7,29	7,50	6,42	6,09	0,24	0,17	0,20
N absorvido, g/dia	32,45	32,79	30,63	28,78	31,35	0,42	0,19	0,39
N urinário, g/dia	15,99	14,88	16,10	13,89	17,10	1,05	0,66	0,13
N retido, g/dia	16,46	17,91	14,53	14,90	14,25	0,98	0,18	0,95
%N absorvido	50,69	54,40	44,67	48,40	44,79	2,33	0,25	0,95
%N ingerido	41,70	44,49	36,59	39,66	37,48	2,00	0,29	0,94

¹G0 = dieta sem adição de glicerina bruta; G5 = adição de 5% de glicerina bruta; G10 = adição de 10% de glicerina bruta; G15 = adição de 15% de glicerina bruta; G20 = adição de 20% de glicerina bruta.

²EPM = Erro padrão da média.

³L = efeito linear; Q = efeito quadrático.

Com relação ao balanço de nitrogênio, não houve efeito da inclusão de glicerina bruta sob as variáveis analisadas (Tabela 15). Rico et al. (2012) avaliaram a inclusão de 0, 3, 5 ou 8% glicerol seco em dietas de vacas em lactação sobre a fermentação “in vitro”, e observaram que o aumento nos teores de glicerol na dieta não aumentou a eficiência na síntese de proteína microbiana. Também observaram que a concentração de N-amoniaco aumentou apenas quando incluíram 8% de glicerol nas dietas.

5.4 Conclusão

A substituição parcial do milho pela glicerina bruta não afeta o consumo de água e de MS, porém causa alterações pontuais nas concentrações de AGCC. A glicerina bruta contendo 83,6% de glicerol possui o mesmo potencial de produção de propionato que o milho tipo “flint” triturado. A glicerina bruta aumenta o aporte de nutriente dos animais por aumentar a digestibilidade da MS e MO, e mantém as concentrações de glicose sérica.

Quando a correção da PB é realizada com a inclusão de farelo de soja, o balanço de nitrogênio não é afetado quando a glicerina bruta substitui o milho.

Referências

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15th ed. Arlington, 1990. v. 1.

_____. **Official methods of analysis**. 16th ed. Gaithersburg, 1997. 1141p.

AVILA, J.S.; CHAVES, A.V.; HERNANDEZ-CALVA, M. BEAUCHEMIN, K.A.; MCGINN, S.M.; WANG, Y.; HARSTAD, O.M.; MCALLISTER, T.A. Effects of replacing barley grain in feedlot diets with increasing levels of glycerol on in vitro fermentation and methane production. **Animal Feed Science and Technology**. Amsterdam, v.166, n.167, p.265-268, 2011.

BARHAM, D.; TRINDER, P. An improved colour reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system. **Analyst**, London, v. 97, p. 142-145, 1972

BERGNER, H.; KIJORA, C.; CERESNAKOVA, Z.; SZAKACS, J. In vitro studies on glycerol transformation by rumen microorganisms. **Arch Tierernahr**, Berlin, v.48, p.245–256, 1995.

CHANEY, A.L.; MARBACH, E.P. Modified reagentes for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, Baltimore, v. 8, p. 130-137, 1962.

CHASE, C.C.; HIBBERD, C.A. Utilization of low-quality native grass hay by beef cows fed increasing quantities of corn grain. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.65, p.557–566, 1987.

CHESSON, A.; FORSBERG, C.W. Polysaccharides degradation by rumen microorganisms. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Ed.). **The rumen microbial ecosystem**. 2nd ed. London: Blackie, 1997. p. 329-381.

CHUNG, Y.H.; RICCO, D.E.; MARTINEZ, C.M.; CASSIDY, T.W.; NOIROT, V.; AMES, A.; VARGAS, G.A. Effects of feeding dry glycerin to early postpartum Holstein dairy cows on lactational performance and metabolic profiles. **Journal of Dairy Science**, Champaign v.90, p.5682-5691, 2007.

DROUILLARD, J.S. Glycerin as a feed for ruminants: Using glycerin in highconcentrate diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.86(E-Suppl.2),p.392. (Abstr.) 2008.

HESS, B.W.; LAKE, S.L.; GUNTER, S.A. Using glycerin as a supplement for forage-fed ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.86(E-Suppl. 2), p.392-393. (Abstr.), 2008.

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

KREHBIEL, C.R. Ruminal and physiological metabolism of glycerin. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.86(E-Suppl. 2), p.392. (Abstr.), 2008.

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

MENTSCHHEL, J.; LEISER, R.; MULLING, C.; PFARRER, C.; CLAUS, R. Butyric acid stimulates rumen mucosa development in the calf mainly by a reduction of apoptosis. **Arch Tierernahr**, Berlin, v.55, p.85–102, 2001.

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

PETHICK, D.W.; CUMMINS, L.; GARDNER, G.E.; KNEE, B.W.; MCDOWELL, M.; MCINTYRE, B.L.; TUDOR, G.; WALKER, P.J.; WARNER, R.D. The regulation of glycogen level in the muscle of ruminants by nutrition. **New Zeland Society of Animal Production**, New Zeland, v.60, p.94-98, 2000,

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

RICO, D.E.; CHUNG, Y.-H.; MARTINEZ, C.M.; CASSIDY, T.W.; HEYLER, K.S.; VARGA, G.A. Effects of partially replacing dietary starch with dry glycerol in a lactating cow diet on ruminal fermentation during continuous culture. **Journal of Dairy Science**, Champaign v.95, p.3310-3317, 2012.

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

SAS INSTITUTE. **Sas systems for Windows**: version 9. Cary, 2002.

SCHRÖDER, A.; SÜDEKUM, K.-H. Glycerol as a by-product of biodiesel production in diets for ruminants. In: WRATTEN, N.; SALISBURY, P.A. (Ed.). *New Horizons or an Old Crop*. In: INTERNATIONAL RAPESEED CONGRESS, 10., 1999. Canberra, Australia. **Proceedings...** Canberra, Australia, 1999. p. 241.

STEWART, C.S.; BRYANT, M.P. The rumen bacteria. In: HOBSON, : P.N. (Ed.). **The Rumen Microbial Ecosystem**. London:Elsevier Applied Science, 1988. p. 21-75.

TERRÉ, M.; NUDA, A.; CASADO P.; BACH, A. The use of glycerine in rations for light lamb during the fattening period. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v.164, p.262-267, 2011.

TRABUE, S.; SCOGGIN, K.; TJANDRAKUSUMA, S.; RASMUSSEN, M.S.; REILLY, P.J. Ruminal fermentation of propylene glycol and glycerol. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.55, p.7043-7051, 2007.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.74, p.3583-3597, 1991.

6 DESEMPENHO E METABÓLITOS SANGUÍNEOS DE OVELHAS ALIMENTADAS, NO FINAL DA GESTAÇÃO E LACTAÇÃO, COM DIETAS CONTENDO GLICERINA BRUTA

Resumo

Cento e dezoito ovelhas da raça Santa Inês, com 90 dias de prenhez foram utilizadas para avaliar a inclusão de glicerina bruta em substituição ao milho. As dietas foram isonitrogenadas ($13,0 \pm 0,3\%$ de PB, na MS) e compostas por 70% de concentrado e 30% de volumoso (bagaço de cana-de-açúcar “*in natura*”), sendo os teores de inclusão de glicerina bruta (83,6% de glicerol, na MS) de 0 ou 10%, correspondendo aos tratamentos G0 e G10, respectivamente. A dieta foi fornecida diariamente “*ad libitum*”. Após a parição, 32 ovelhas juntamente com as suas crias foram distribuídas em delineamento experimental de blocos completos casualizados. Da segunda a oitava semana de lactação foi mensurado o consumo de matéria seca das ovelhas e o consumo de concentrado inicial dos cordeiros. Nesse mesmo período, semanalmente as ovelhas eram separadas de suas crias e ordenhadas mecanicamente, após aplicação intravenosa de 10 UI de ocitocina sintética. Três horas após a 1^o ordenha, as ovelhas foram novamente ordenhadas e a produção de leite foi registrada. Além disso, foram avaliadas as variáveis: peso, escore de condição corporal (ECC), composição química do leite, parâmetros sanguíneos e desempenhos das crias. O peso e o escore de condição corporal das ovelhas não foram influenciados pela adição de glicerina bruta. Houve efeito de semana para ambas variáveis. Não houve efeito da inclusão de glicerina bruta no consumo de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e fibra em detergente neutro (FDN). Porém, houve aumento no consumo de matéria mineral (MM) com a inclusão de glicerina bruta. Para todas as variáveis de consumo houve efeito de semana, sendo crescente ao longo do experimento. A inclusão de glicerina bruta não influenciou a produção de leite, porém diminuiu a porcentagem de gordura no leite. As demais variáveis relacionadas à composição do leite não foram afetadas pelos tratamentos. O peso corporal das crias e o ganho de peso médio diário não foram influenciados pelos tratamentos. A ingestão de concentrado inicial durante a oitava semana de lactação foi maior para os cordeiros do tratamento com glicerina. Nas demais semanas não houve efeito de tratamento. A adição da glicerina bruta na dieta das ovelhas diminuiu a concentração sérica de ácido graxo não esterificado (AGNE). A inclusão de 10% de glicerina bruta na dieta de ovelhas durante a gestação e lactação não prejudica o desempenho dos animais e reduz a possibilidade de ocorrência de toxemia da gestação.

Palavras-chave: Periparturiente; Glicerol; Balanço energético; AGNE

Abstract

One hundred and eighteen, 90 days pregnant, Santa Inês ewes were used to determine the effects of partial replacement of corn by crude glycerin on

performance, NEFA concentration and lamb growth. Diets were isonitrogenous ($13.0 \pm 0.3\%$ CP, DM basis) and composed of 70% concentrate and 30% roughage (raw sugar cane bagasse). Crude glycerin (83.6% glycerol, DM basis) levels were zero or 10%, corresponding to the treatments G0 and G10, respectively. The diet was fed daily, "ad libitum". After lambing, 32 ewes with their offspring were distributed in a randomized complete block design. From the second until the eighth week of lactation dry matter intake of the ewes and starter of the lambs were measured. In the same period, once a week the ewes were separated from the lambs and mechanically milked after intravenous administration of 10 IU of synthetic oxytocin. Three hours after the first milking, the ewes were again milked and milk production was recorded. Weight, BCS, milk chemical composition, blood parameters and growth of lambs were assessed. Body weight and body condition score of the ewes were not affected by the addition of crude glycerin. There was no effect of the inclusion of crude glycerin on intake of DM, OM, CP and NDF. However, there was an increase on mineral matter intake for the glycerin fed ewes. For all variables of intake there was a week effect, with increase throughout the experiment. The inclusion of crude glycerin did not affect milk production. However, there was a decrease in milk fat percentage. Other variables related to milk composition were not affected by treatments. Lambs weight and average daily gain were not affected by treatments. The intake of starter during the eighth week of lactation was higher for lambs from ewes fed glycerin. Crude glycerin fed ewes showed a decrease on blood NEFA. The inclusion of 10% of crude glycerin in the diets of sheep during pregnancy and lactation had no detrimental effect on performance of ewes and lambs. Using 10% of crude glycerin decreases the chances of pregnancy toxemia in ewes.

Keywords: Periparturient; Glycerol; Glucose; NEFA

6.1 Introdução

O aumento na produção de biodiesel tem levado a maiores estoques de glicerina bruta, tornando-o um produto com menor valor comercial (AVILA et al., 2011). Tal co-produto é utilizado na indústria de cosméticos, resina, farmacêutica, alimentícia, têxtil (GONÇALVES, 2009) e atualmente as pesquisas tem avaliado o uso na produção de biogás e na nutrição animal.

Pesquisadores têm demonstrado que o glicerol possui valor energético similar ao milho grão (SCHRÖDER; SÜDEKUM, 1999; MACH et al., 2009). Terré et al. (2011) complementa ao afirmar que a glicerina bruta pode ser utilizada como ingrediente energético nas rações em substituição aos cereais, principalmente por estes apresentarem maiores custos que a glicerina.

O glicerol, principal componente da glicerina bruta, é utilizada no tratamento de cetose em ruminantes desde os anos 50 (GRIFFITHS, 1952; JOHNSON, 1954). Nos anos 70 novos estudos foram conduzidos para avaliar o uso de glicerol no

tratamento de cetose (FISHER et al., 1971, 1973). Nos últimas décadas aumentou-se o interesse no uso desse ingrediente em dietas de vacas leiteiras no período de transição e no pós-parto para prevenção e/ou tratamento de cetose (RÉMOND et al., 1993; DEFRAIN et al., 2004; CHUNG et al., 2007). O glicerol pode ser absorvido pela parede ruminal e convertido a glicose no fígado (RÉMOND et al., 1993), fermentado a propionato que é um precursor gliconeogênico dos ruminantes, aumentando os teores sanguíneos de glicose (CHUNG et al, 2007) ou então passar pelo rúmen e ser absorvido no intestino delgado (KREHBIEL, 2008). Essas vias metabólicas estão diretamente relacionadas ao aumento na glicose circulante, atuando diretamente na prevenção e tratamento de cetose.

As características químicas da glicerina bruta aumenta o interesse no uso para nutrição de animais que estejam em alta exigência nutricional. DeFrain et al. (2004) verificaram que o glicerol pode aliviar os sintomas da cetose quando fornecido em doses orais (drench) e que se for adicionado a dieta, o glicerol, por ser um substrato precursor de glicose, diminui as chances de ocorrência de fígado gorduroso, cetose e melhora o desempenho produtivo ao longo da lactação.

Bodarski et al. (2005) reportaram aumento na produção de leite de 14,6 e 12,5% para vacas alimentadas com 300 ou 500 mL de glicerol por dia, respectivamente, com mais de 10 semanas de lactação. Em contrapartida, DeFrain et al.(2004) mostraram que a inclusão de glicerina bruta não influenciou a produção de leite.

Maiores concentrações de glicose plasmática, menores concentrações plasmáticas de beta-hidroxibutirato, ácidos graxos não esterificados e menores concentrações de cetona na urina de vacas suplementadas com glicerol no início da lactação foram observadas por Wang et al. (2009). Os autores também verificaram ao longo dos 63 dias de experimento menor variação do peso corporal dos animais que foram suplementadas com glicerol em relação ao grupo controle.

Donkin et al. (2009) reportaram que alguns resultados foram obtidos com o uso de glicerina purificada, a qual possui maior teor de glicerol, e que deveria haver cautela ao extrapolar os resultados quando utilizado a glicerina bruta.

Os objetivos deste experimento foram verificar os efeitos da inclusão de 10% glicerina bruta na dieta de animais com alta exigência energética, no caso, ovelhas no terço final de gestação e durante a lactação sobre a variação de peso, ECC,

parâmetros sanguíneos no pré e pós-parto, consumo, produção e composição do leite, e desempenho dos cordeiros.

6.2 Material e métodos

O estudo foi conduzido nas instalações do Sistema Intensivo de Produção de Ovinos e Caprinos (SIPOC) do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - ESALQ, Universidade de São Paulo – USP, localizada na cidade de Piracicaba – SP (22° 42’ 24” S e 47° 37’ 53” O).

6.2.1 Animais e instalações

Inicialmente foram utilizadas 118 ovelhas da raça Santa Inês, com aproximadamente 90 dias de prenhez, confinadas em baias para 12 ovelhas com piso de concreto, coberto, provido de bebedouros e cochos. As ovelhas foram agrupadas por escore de condição corporal e peso, para melhor monitoramento durante o terço final da gestação, e distribuídas entre os dois tratamentos.

Após a parição, 32 ovelhas (16 de cada tratamentos) juntamente com sua (s) cria (s) foram alojadas em baias cobertas (1,3 m x 3,5 m) com piso concretado, contendo cocho para fornecimento de ração, cocho para sal mineral e bebedouro, para avaliar a lactação e desempenho das crias. Quatorze ovelhas foram de parto simples e dezoito de parto duplo. Todos os cordeiros foram F1 (Dorper x Santa Inês), sendo vinte machos e trinta fêmeas. Os dados utilizados para as análises foram das 32 ovelhas selecionadas para avaliar a lactação, assim como as devidas crias. As demais ovelhas (86 animais) deixaram de receber as dietas experimentais.

No dia do parto todas as ovelhas foram everminadas com moxidectin 1,0% (Cydectin, fort Dodge Saúde Animal, Campinas, São Paulo, Brasil) na dosagem de 1 mL/50 kg de peso corporal.

6.2.2 Delineamento experimental, tratamentos e manejo alimentar

O delineamento experimental foi de blocos completos casualizado, com 16 blocos e 2 tratamentos. As ovelhas foram agrupadas por peso, escore de condição

corporal e data da parição e os blocos foram definidos pelo sexo e tipo de parto (simples ou duplo).

A glicerina bruta utilizada (Tabela 16) foi advinda da produção de biodiesel a partir do óleo de soja (Caramuru Alimentos S.A. Itumbiara, GO, Brasil). Os tratamentos foram definidos pela adição de glicerina bruta em substituição ao milho. A glicerina bruta foi adicionada a uma dieta base, contendo 70% de concentrado e 30% de volumoso (bagaço de cana-de-açúcar *in natura*). Os tratamentos foram: G0 (controle) em que não houve adição de glicerina e G10 (glicerina bruta) em que se adicionou 10% de glicerina bruta na MS (Tabela 17). As dietas foram formuladas através do programa “Small Ruminant Nutrition System 6.0”.

Tabela 16 – Composição química da glicerina bruta

Variáveis	% na MS
MS	79,3
Glicerol	83,6
Extrato etéreo	0,1
Sódio	1,8
Metanol	397,0 mg/kg

O milho e a casca de soja utilizados nas dietas foram moídos utilizando um triturador (Nogueira® DPM – 4, Itapira, São Paulo, Brasil), com peneira de 10 mm. Posteriormente foram misturados ao farelo de soja, glicerina bruta, ureia, calcário, mistura mineral e monensina sódica (Elanco do Brasil, São Paulo, Brasil) utilizando-se misturador horizontal com capacidade para 500 kg (Lucato®, Limeira, Brasil). A monensina sódica foi adicionada na proporção de 25 mg/kg de matéria natural. A cada partida de concentrado uma amostra foi colhida, conservada a -18 °C para posterior análise.

Diariamente o bagaço de cana-de-açúcar “*in natura*” foi homogeneizado com o concentrado utilizando um vagão forrageiro (Casale®, São Carlos, SP, Brasil). As rações ofertadas foram pesadas em balança eletrônica com precisão de 0,1 grama (Marte AC 10K) e ofertadas “*ad libitum*” às 8 horas da manhã, permitindo sobra de até 10% do ofertado.

Tabela 17 - Proporção dos ingredientes e composição química das rações experimentais, % na MS

	Dieta ¹	
	G0	G10
Ingredientes		
Bagaço de cana	30	30
Farelo de Soja	10,4	12,5
Glicerina	0,0	10,0
Milho moído	35,0	25,0
Casca de soja	22,5	20,4
Ureia	0,5	0,5
Calcário	0,7	0,7
Sal Mineral ²	0,9	0,9
Composição química		
Matéria seca	72,7	72,0
Matéria mineral	5,1	5,9
Matéria orgânica	94,9	94,1
Proteína bruta	13,2	12,7
Fibra em detergente neutro	50,7	49,4

¹G0: Dieta Controle; G10: Adição de 10% de glicerina.

²Composição: Ca 13,4%, P 7,5%, Mg 1%, S 7%, Cl 21,8%, Na 14,5%, Mn 1100 mg/kg, Fe 500 mg/kg, Zn 4600 mg/kg, Cu 300 mg/kg, Co 40 mg/kg, I 55 mg/kg, Se 30 mg/kg.

Uma vez por semana as sobras foram recolhidas e pesadas para cálculo do CMS, amostradas (10%) e armazenadas a -18° C. As amostras das rações ofertadas e das sobras foram moídas em moinho tipo Wiley (Marconi, Piracicaba, Brasil) com peneiras com crivos de 1,0 mm e analisadas para determinação de matéria seca (MS) por meio de secagem das amostras em estufa a 105° C por 24 horas e matéria mineral (MM) através da incineração das amostras em mufla a 550°C por 4 horas (AOAC, 1990) A matéria orgânica (MO) foi calculada pela diferença entre a MS e MM. A determinação do nitrogênio total utilizando aparelho Leco FP528 (Leco Corporation, St. Joseph, MI), conforme a AOAC (1997), a fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) foi determinada conforme Van Soest, Robertson e Lewis (1991), utilizando α -amilase termoestável e sulfito de sódio, em aparelho Ankom 2000 (Ankom Tech. Corp., Fairport, NY). As análises foram

realizadas no Laboratório de Nutrição e Reprodução Animal (LNRA) e no Laboratório de Bromatologia, ambos do Departamento de Zootecnia da ESALQ – USP.

As ovelhas foram pesadas no dia do parto, e durante a lactação elas foram pesadas por três dias consecutivos, sem jejum alimentar, na segunda, quarta e oitava semanas. Também foi realizada a avaliação do escore de condição corporal, classificando as ovelhas com notas de 1 (magra) a 5 (gorda) com incremento de 0,25.

6.2.3 Produção e composição do leite

Da segunda a oitava semana, todas as quintas-feiras as ovelhas foram separadas de suas crias e ordenhadas mecanicamente às 10h e 13h, após aplicação intravenosa de 10 unidades internacionais de ocitocina sintética injetável (Univet, São Paulo, SP, Brasil). A função da primeira ordenha foi apenas de esvaziar o úbere das ovelhas, sendo esse leite descartado. Após três horas e nova aplicação de ocitocina, as ovelhas foram ordenhadas pela segunda vez. O total de leite produzido por ovelha neste intervalo foi pesado em balança eletrônica (Marte AC 10K) de precisão e amostrado (SUSIN; LOERCH; MCCLURE, 1995).

Cerca de 30 mL do leite produzido por cada animal na segunda ordenha foi colhido e conservado em 2-bromo-2-nitropropano-1-3-diol para posterior determinação de proteína, gordura, lactose e sólidos totais no Laboratório de Análise de Leite, da Clínica do Leite, do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP. As concentrações de gordura, proteína, lactose e sólidos totais foram determinados por absorção infravermelha, utilizando-se o equipamento Bantley 2000® (BENTLEY INSTRUMENTS, Chasca, MI, EUA). Os cálculos de correção do leite para gordura (6,5%) e proteína (5,8%) foram realizadas de acordo com Pulina e Nuda (2002), através das equações:

$$\text{LCG (6,5\%)} = \text{produção} \times (0,37 + 0,097 \times \text{gordura})$$

$$\text{LCGP (6,5 e 5,8\%)} = \text{produção} \times (0,25 + 0,085 \times \text{gordura} + 0,035 \times \text{proteína})$$

Sendo:

LCG: leite corrigido para gordura.

LCGP: leite corrigido para gordura e proteína.

6.2.4 Parâmetros sanguíneos

Amostras de sangue foram colhidas semanalmente, da segunda semana pré parto até a oitava semana de lactação, em tubos tipo Vacutainer® com gel separador inerte para soro, por punção na veia jugular das ovelhas. Logo após a colheita, os tubos foram centrifugados a 4.000 x g a 4°C por 15 minutos e alíquotas do soro obtido foram colocados em três microtubos de 1,5 mL, armazenados a -18°C e posteriormente realizada as análises de insulina, glicose e ácido graxo não esterificado (AGNE).

As análises para determinar a concentração sérica de glicose foram realizadas utilizando o método descrito por Barham e Trinder (1972), em analisador bioquímico automático Lyasis, com o kit comercial da marca Dyasis®, junto a na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ da Universidade de São Paulo – USP,

As dosagens hormonais de insulina foram realizadas no Laboratório de Nutrição e Reprodução Animal (LNRA), na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ – Piracicaba, utilizando o método de Quimioluminescência automatizada (Immulite® 1000, Siemens Healthcare Diagnostics, Deerfield, IL, USA) através de Kits comerciais do Immulite 1000 para determinação de insulina. A sensibilidade do ensaio foi de 2,0 µUI e os coeficientes de variação intra e inter-ensaio foram de 4,0 e 8,9%, respectivamente.

As concentrações dos AGNE foram realizadas enzimaticamente com o uso do “kit” comercial AGNE-Linearity Set (Wako Chemicals USA Richmond, VR, EUA) modificado por Johnson e Peters (1993), utilizando-se microplacas com volume de 250 µL em aparelho Leitora de Microplacas Expert Plus® (BIOCHROM LTD., Cambridge, Reino Unido) com filtro para absorvância de comprimento de luz de 550 nanômetros.

6.2.5 Desempenho dos cordeiros

A partir do sétimo dia de idade os cordeiros receberam concentrado inicial “*ad libitum*”. Os ingredientes utilizados foram: 70,0% de milho; 23,8% de farelo de soja; 1,5% de calcário; 1,0% de mistura mineral e 3,7 de melão de cana-de-açúcar. A partir do 14º dia foi incluído monensina sódica no concentrado inicial, 25 mg/kg de matéria natural, para controle de coccidiose. O concentrado inicial apresentou 85,1%

de MS; 19,8% de PB; 11,9% de FDN; 95,4% de MO e 4,6% de MM. O alimento foi oferecido em alimentador privativo permitindo acesso apenas dos cordeiros. Para não terem acesso ao cocho das ovelhas, os cordeiros foram mantidos em sistema de coleira, permitindo livre acesso a ovelha, bebedouro e alimentador. Semanalmente a sobra do concentrado inicial foi pesada para o cálculo do CMS, amostrada e armazenada à -18°C.

Semanalmente, os cordeiros foram pesados em balança eletrônica, após jejum alimentar e hídrico de 3 horas, para cálculo do ganho de peso médio diário.

6.2.6 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o MIXED do SAS (2002), e considerado efeito significativo quando $P < 0,05$. Todos os dados foram submetidos ao teste de Shapiro Wilk para verificar a normalidade dos resíduos, a retirada de outliers e a homogeneidade das variâncias pelo teste de Levene. O conjunto de dados que não respeitou tais premissas foi submetido às transformações logarítmicas, inversa ou raiz quadrada.

Os dados relacionados à ingestão, produção e composição do leite e desempenho das crias foram analisados como medidas repetidas no tempo. O modelo estatístico empregado foi: $Y_{ijk} = \mu + B_i + T_j + S_k + (BS)_{ik} + (TS)_{jk} + E_{ijk}$, onde μ = média geral; B_i = efeito de bloco ($i = 1$ a 16); T_j = efeito do tratamento ($j = 1$ a 2); S_k = efeito da semana experimental ($k = 1$ a 7); $(BS)_{ik}$ = interação bloco x semana experimental; $(TS)_{jk}$ = interação tratamento x semana experimental, e E_{ijk} = erro residual. Bloco e interação bloco e semana foram incluídos como efeitos aleatórios.

Os dados relacionados aos parâmetros sanguíneos foram analisados como medidas repetidas no tempo. O modelo estatístico empregado foi: $Y_{ijk} = \mu + B_i + T_j + S_k + (BS)_{ik} + (TS)_{jk} + E_{ijk}$, onde μ = média geral; B_i = efeito de bloco ($i = 1$ a 16); T_j = efeito do tratamento ($j = 1$ a 2); S_k = efeito da semana experimental ($k = 1$ a 7 para AGNE e glicose e $k = 1$ a 4 para insulina); $(BS)_{ik}$ = interação bloco x semana experimental; $(TS)_{jk}$ = interação tratamento x semana experimental, e E_{ijk} = erro residual. Bloco e interação bloco e semana foram incluídos como efeitos aleatórios.

Para todos os dados analisados como medidas repetidas no tempo foram testadas as matrizes de covariância “compound symmetry, heterogeneous

compound symmetry, autoregressive, heterogeneous autoregressive, unstructured, banded, variance components, toeplitz e heterogeneous toeplitz” e definidas de acordo com o menor valor obtido para “Akaike’s Information Criterion” (AIC). As médias dos tratamentos foram obtidas através do comando LSMEANS. O efeito de tratamento, semana e interação tratamento semana foram definidos pelo teste F da análise de variância.

Os dados de peso e escore de condição corporal das ovelhas foram analisadas através do modelo: $Y_{ijk} = \mu + B_i + T_j + E_{ij}$, onde μ = média geral; B_i = efeito de bloco ($i = 1$ a 16); T_j = efeito do tratamento ($j = 1$ a 2) e E_{ijk} = erro residual. Bloco foi incluído como efeito aleatório. As médias dos tratamentos foram obtidas através do comando LSMEANS. O efeito de tratamento foi definido pelo teste F da análise de variância.

6.3 Resultados e discussão

O peso e o escore de condição corporal das ovelhas não foram influenciados pela adição de glicerina bruta (Tabela 18). Houve efeito de semana para ambas variáveis, com aumento no peso e ECC, indicando que não houve restrição alimentar ao longo do experimento, o que poderia interferir na produção de leite. Corroborando com os dados obtidos, Mach et al. (2009) avaliaram a inclusão de teores crescentes de glicerina bruta na dieta de bovinos, concluíram que tal co-produto pode ser utilizado como ingrediente energético e pode substituir eficientemente os cereais nas dietas de terminação de bovinos. Reportaram ainda que a estimativa da energia metabolizável da glicerina bruta, com 86,0% de glicerol, é aproximadamente 3,47 Mcal/kg na MS.

Da mesma forma, Osborne et al. (2009) avaliaram a inclusão de glicerol ou óleo de soja na água de vacas durante 7 dias pré e pós-parto. Os autores concluíram que não houve diferença na energia ingerida e o balanço energético ao longo do período experimental. Corroborando com essas informações, Lee et al. (2011) avaliando a fermentação do glicerol in vitro verificaram aumento na produção de propionato, queda na relação acetato:propionato, produção de gases e metano. Os autores concluíram que a adição de glicerol na dieta pode aumentar a eficiência no uso da energia dos alimentos pelos ruminantes.

No entanto, Donkin et al. (2009) verificaram que a inclusão de 0, 5, 10 ou 15% de glicerol na dieta de vacas em lactação, apesar de haver aumento linearmente o peso corporal dos animais, não houve efeito no escore de condição corporal.

Não houve efeito da inclusão de glicerina bruta no consumo de MS, MO, PB e FDN. Porém, houve efeito no consumo de MM, sendo maior para o G10. Isso foi devido ao elevado teor de sódio presente na glicerina utilizado. Doppenberg e Van der Aar (2007) relataram que a utilização de hidróxido de sódio, que possui a função de catalisar a hidrólise, pode reagir com o ácido clorídrico e aumentar os teores de cloreto de sódio na glicerina, podendo ultrapassar 6% e limitar a inclusão desse co-produto nas dietas. Tyson et al. (2004) reportaram que o sal e as impurezas nos óleos reciclados e os reagentes utilizados na transesterificação são os principais problemas da glicerina bruta, pois elas podem limitar o consumo dos animais. No presente estudo, apesar da glicerina aumentar os teores de minerais na ração e em consequência a ingestão de MM, não afetou o desempenho dos animais.

Tabela 18 – Peso, escore de condição corporal e consumo de ovelhas Santa Inês alimentadas com dietas contendo ou não glicerina bruta

Variáveis	Dietas ¹		EPM ²	Valor de P ³		
	G0	G10		Trat	Sem	T*S
Peso Corporal						
Parto	62,38	63,14	1,28	0,69	-	-
Lactação	64,92	65,34	0,76	0,85	<0,01	0,89
ECC						
Parto	2,90	2,90	0,03	1,00	-	-
Lactação	2,96	2,99	0,02	0,64	<0,01	0,81
Consumo (kg/dia)						
MS	2,148	2,164	0,03	0,93	<0,01	1,00
MO	2,040	2,031	0,03	0,84	<0,01	1,00
PB	0,300	0,293	<0,01	0,48	<0,01	1,00
FDN	1,041	1,007	0,02	0,50	<0,01	1,00
MM	0,108	0,134	<0,01	<0,01	<0,01	0,84

¹G0 = dieta sem adição de glicerina bruta; G10 = adição de 10% de glicerina bruta;

²EPM = Erro padrão da média.

³Trat = Efeito do tratamento; Sem = efeito da semana; T*S = efeito da interação entre tratamento e semana.

Para consumo de MS, MO, FDN, PB e MM houve efeito de semana, sendo crescente ao longo do experimento, entretanto, não houve interação entre tratamento e semana.

Donkin et al. (2009) verificaram redução no consumo durante os primeiros dias em que foi fornecida dieta com glicerol, possivelmente, devido a adaptação dos animais a dieta experimental. Essa redução no consumo durante os primeiros 7 dias de fornecimento da dieta ocorreu quando os teores de glicerol utilizado excederam 10% de inclusão. Wilbert et al. (2013) relataram que não foi observado redução na ingestão pois os animais passaram por um período de adaptação de dez dias. No presente estudo as dietas experimentais foram fornecidas desde o terço final da gestação, portanto, durante a lactação as ovelhas já estavam adaptadas às dietas com glicerina bruta.

A inclusão de glicerina bruta não influenciou a produção de leite (Tabela 19). Isso pode ser explicado pela ausência de efeito na ingestão de nutrientes e confirma que a glicerina bruta quando incluída em até 10% da dieta possui valor nutritivo semelhante ao milho. Por outro lado, a inclusão de glicerina bruta nas dietas de ovelhas em lactação diminuiu o teor de gordura no leite. As demais variáveis relacionadas à composição do leite não foram afetadas pelos tratamentos.

Não houve interação entre tratamento e período para as variáveis relacionadas à produção e composição do leite. Houve efeito de período para todas variáveis, exceto para produção de gordura. A diminuição no teor de gordura do leite pode ser explicada pelo menor teor de fibra da dieta contendo glicerina bruta, quando este substituiu o milho (Tabela 17). Apesar da glicerina bruta diminuir a porcentagem de gordura no leite a produção de gordura não foi afetada pelos tratamentos. Resultados semelhantes foram obtidos por Wilbert et al. (2013) ao trabalharem com vacas no terço médio de lactação e recebendo 4, 8 ou 12% de glicerina bruta, verificaram que não houve diferença na produção de leite, gordura, lactose e sólidos totais, observando apenas alteração na produção de proteína. Os autores verificaram que a energia líquida para lactação estimada com base na composição química da glicerina bruta (81,4% de glicerol) foi muito similar à densidade energética obtida com o grão de milho. Da mesma forma, DeFrain et al. (2004) trabalharam com vacas no pré e pós-parto sendo alimentadas com uma dieta base sendo adicionado 0,86 kg/dia de amido de milho (controle), 0,43 de amido de milho mais 0,43 de glicerol ou 0,86 kg de glicerol, observaram uma tendência ($P < 0,13$)

em diminuir a produção de gordura no leite quando o glicerol é adicionado à dieta. Os autores atribuíram tal resultado à diminuição na relação acetato:propionato observado nos estudos realizados “*in vivo*” (RÉMOND et al., 1993; SCHRÖDER; SÜDEKUM, 1999) e enfatizaram que isso pode ser atribuído a fermentação do glicerol ser similar ao que ocorre com as fontes de carboidratos fermentáveis no rúmen.

Tabela 19 – Produção de leite, leite corrigido para gordura (LCG), leite corrigido para gordura e proteína (LCGP) em três horas e composição do leite de ovelhas Santa Inês alimentadas com dietas contendo ou não glicerina bruta

Variáveis ⁴	Dietas ¹		EPM ²	Valor de P ³		
	G0	G10		Trat	Sem	T*S
Produção (g/3h)						
Leite	168,6	164,7	3,75	0,66	<0,01	0,66
LCG	192,0	172,9	4,58	0,25	<0,01	0,52
LCGP	184,3	167,1	4,31	0,26	<0,01	0,55
Gordura	13,9	11,5	0,36	0,14	0,20	0,95
Proteína	8,2	8,0	0,18	0,51	<0,01	0,39
Lactose	8,1	7,9	0,20	0,74	<0,01	0,75
ST	31,6	29,1	0,73	0,10	<0,01	0,58
ESD	18,0	17,6	0,41	0,63	<0,01	0,70
Teor (%)						
Gordura	8,0	7,0	0,11	0,01	<0,01	0,66
Proteína	4,9	4,9	0,04	0,57	<0,01	0,57
Lactose	4,7	4,8	0,03	0,39	<0,01	0,73
ST	18,7	17,7	0,12	0,10	<0,01	0,58
ESD	10,7	10,7	0,03	0,78	0,02	0,97

¹G0 = dieta sem adição de glicerina bruta; G10 = adição de 10% de glicerina bruta;

²EPM = Erro padrão da média.

³Trat = Efeito do tratamento; Sem = efeito da semana; T*S = efeito da interação entre tratamento e semana.

⁴ST = sólidos totais; ESD = extrato seco desengordurado.

Donkin e Doane (2007) fizeram levantamento de vários trabalhos que avaliaram a adição de glicerina em dietas de vacas em lactação e concluíram que os trabalhos mostram a possibilidade de adicionar valores próximos a 10% sem causar

efeitos deletérios, podendo ainda, beneficiar a produção e composição do leite. Posteriormente, Donkin et al. (2009) observaram que o glicerol não causou efeito prejudicial na produção de leite quando utilizado no período de transição ou durante a lactação. Nesse trabalho os autores afirmaram a possibilidade de inclusão de até 15% de glicerol na TMR sem afetar a produção de leite.

A inclusão de 10% de glicerina bruta na dieta de ovelhas diminuiu a concentração de ácido graxo não esterificado circulante (Tabela 20), indicando que houve menor mobilização de tecido adiposo dos animais alimentados com o co-produto (Figura 1). Isso demonstra que a glicerina bruta melhorou o status energético dos animais, principalmente nos momentos de maior exigência das ovelhas, ou seja, nos 14 dias que antecedem o parto e nos primeiros 14 dias de lactação.

Quando a demanda do animal ultrapassa a ingestão de nutrientes e o balanço energético torna-se negativo, ocorre acréscimo na taxa de lipólise, tendo como resultado aumento na hidrólise de triglicerídeos pela enzima lipase sensível a hormônio (LSH) (SANTOS; SANTOS, 1998). Quando o influxo de ácido graxo e a síntese de triacilglicerol hepático supera a capacidade do fígado de exportá-los na forma de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), o animal torna-se propenso a desenvolver esteatose hepática (HERDT, 1988; GRUMMER, 1993), somado a isso há aumento de corpos cetônicos circulantes que pode levar ao desenvolvimento de cetose (SANTOS; SANTOS, 1998). Portanto, como as ovelhas alimentados com glicerina bruta diminuíram a concentração de AGNE no soro sanguíneo e têm menor chance de desenvolver esteatose hepática e cetose.

O aumento nas concentrações de AGNE no soro sanguíneo antes do parto deve ser regulado hormonalmente, visto que a elevação nos teores de estrógeno nos dias que antecedem o parto tende a aumentar a infiltração de triglicerídeos no fígado (GRUMMER, 1993). Nesse período, as concentrações de AGNE circulante são altamente correlacionadas com a taxa de lipólise (BAUMAN et al., 1988), momento que ocorre o balanço energético negativo, em que os animais mobilizam gordura corporal, no caso o tecido adiposo, principalmente na forma de ácidos graxos não esterificados (CHILLIARD et al., 2003).

Tabela 20 - Parâmetros sanguíneos de ovelhas Santa Inês alimentadas com dietas contendo ou não glicerina bruta

Variáveis	Dietas ¹		EPM ²	Valor de P ³		
	G0	G10		Trat	Sem	T*S
AGNE (mEq/L)	0,267	0,183	0,02	<0,01	<0,01	0,24
Glicose (mg/dL)	61,81	67,59	2,54	0,15	<0,01	0,04
Insulina (µUI)	10,79	15,54	1,18	0,11	0,07	0,05

¹G0 = dieta sem adição de glicerina bruta; G10 = adição de 10% de glicerina bruta;

²EPM = Erro padrão da média.

³Trat = Efeito do tratamento; Sem = efeito da semana; T*S = efeito da interação entre tratamento e semana.

De acordo com Krehbiel (2008) é estimado que aproximadamente 13% do glicerol passe para o intestino delgado, 44% seja fermentado no rúmen e 43% seja absorvido no rúmen. Logo, como boa parte dele é absorvida diretamente pela parede ruminal, torna tal substrato mais eficiente na produção de glicose, em relação ao amido, aumentando os teores de insulina, diminuindo a mobilização de gordura corporal, resultando em menor AGNE circulante.

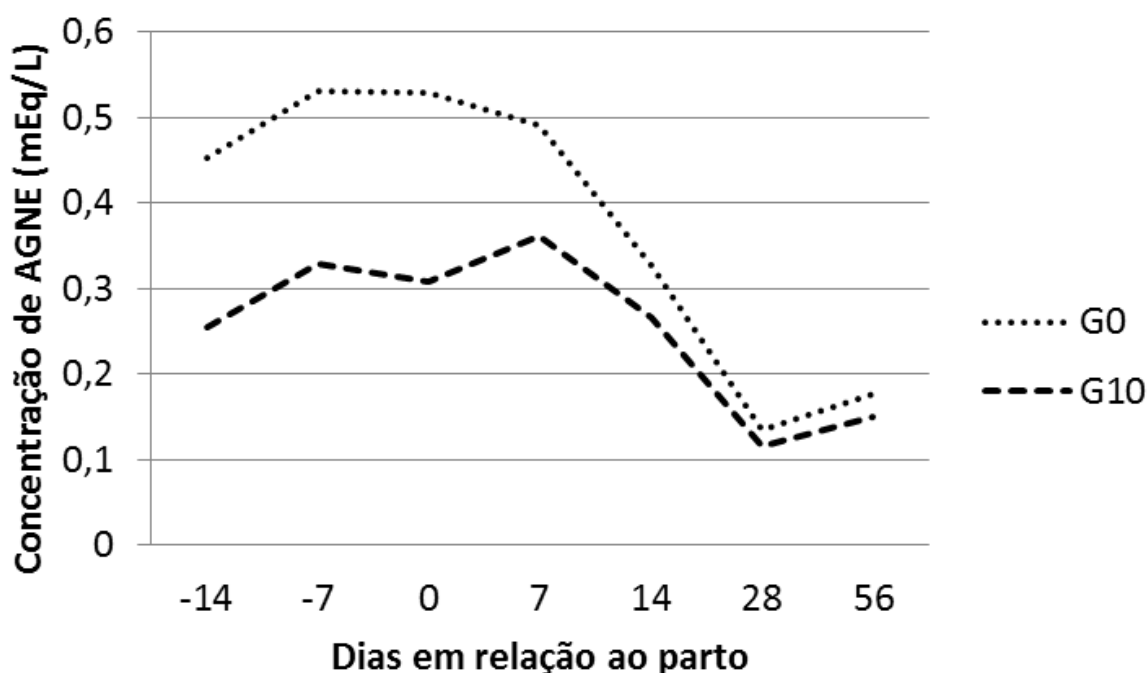


Figura 1 - Concentração de ácido graxo não esterificado (AGNE) em ovelhas ao longo dos dias recebendo dietas contendo glicerina bruta

Corroborando com o presente estudo, concentrações mais baixas de AGNE também foram observadas por Wang et al. (2009) após avaliarem o glicerol como suplemento para vacas no início de lactação, concluíram que a composição do leite

e o consumo não foram afetados, porém, a suplementação das vacas reduziu a intensidade do balanço energético negativo, devido a maior concentração de glicose sanguínea e menor de BHB e AGNE, assim como menor concentração de cetona na urina, o que sugere um aumento na disponibilidade de energia líquida.

DeFrain et al. (2004) concluíram que o AGNE foi menor para o tratamento com o maior nível de glicerol em relação ao demais apenas no sétimo dia de lactação e que nos demais não foi verificada diferença entre os tratamentos. Os autores ainda destacaram que alimentar vacas no período pós-parto com elevados teores de glicerol diminui a concentração de glicose e aumenta beta-hidroxibutirato do sétimo ao vigésimo primeiro dia de lactação, tornando os animais mais susceptíveis a cetose.

Por outro lado, Osborne et al. (2009) concluíram que a inclusão de glicerol ou óleo de soja na água de vacas durante 7 dias pré e pós-parto não influenciou a concentração de AGNE circulante, resultado que difere do presente estudo. Isso pode ser justificado pelo curto período experimental (14 dias), além do que não foi realizado nenhum período de adaptação dos animais ao recebimento do glicerol.

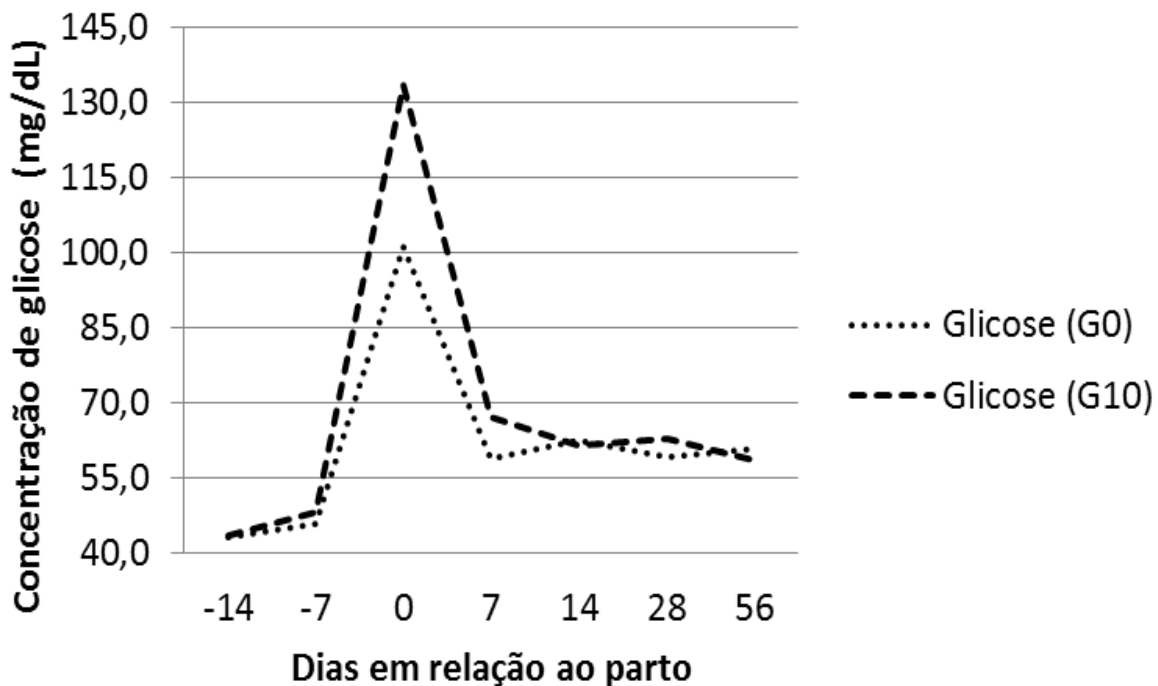


Figura 2 - Concentração de glicose sérica em ovelhas ao longo dos dias recebendo dietas contendo ou não glicerina bruta

Donkin et al. (2009) observaram melhora no ganho de peso dos animais alimentados com teores crescentes de glicerina e aumento linear nas concentrações glicose plasmática. Os autores verificaram que a absorção do glicerol pelo epitélio ruminal ou intestinal pode ser determinante para o metabolismo intermediário do glicerol e seu papel como precursor de glicose. Esse fator, associado com a fermentação de parte do glicerol no rúmen seria o responsável pela melhora na eficiência energética da dieta.

A inclusão de glicerina bruta na dieta não influenciou a concentração de glicose sérica, porém houve interação entre tratamento e semana (Tabela 20). Fazendo o desdobramento dessa interação (Figura 2) foi possível verificar que houve diferença entre os tratamentos no dia do parto ($P < 0,01$), sendo que as médias dos animais que receberam glicerina bruta foi 32,29% maior em relação às ovelhas do tratamento controle.

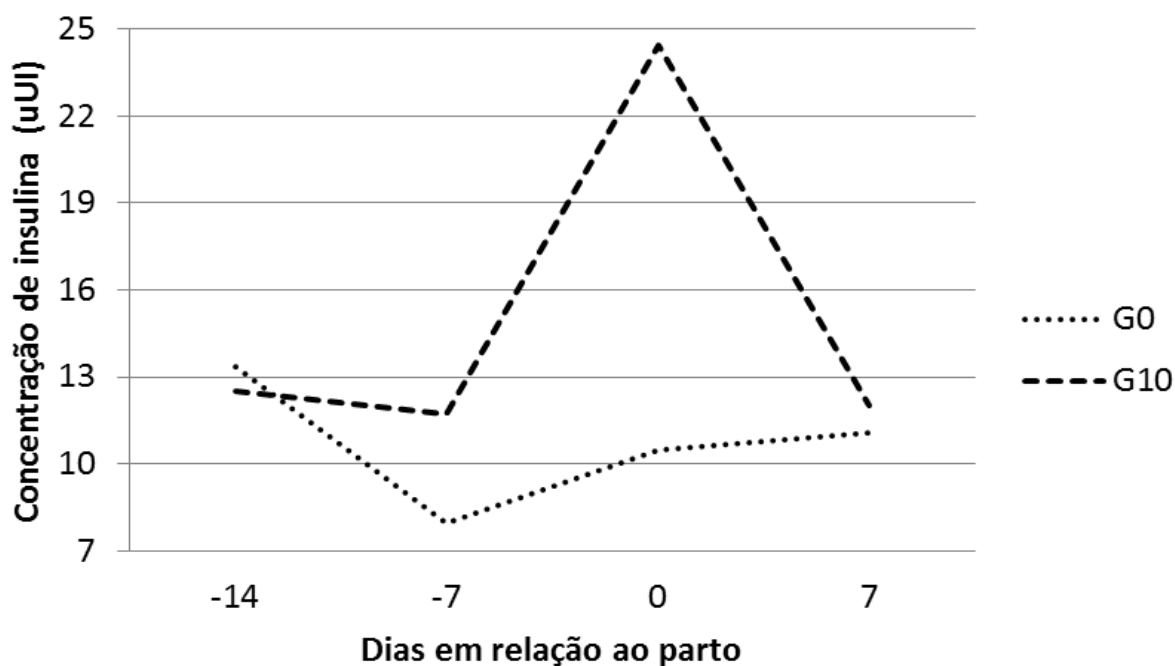


Figura 3 - Concentração de insulina em ovelhas Santa Inês ao longo dos dias recebendo dietas contendo ou não glicerina bruta

A inclusão de glicerina bruta na dieta não afetou as concentrações de insulinas (Tabela 20), porém houve interação entre tratamento e semana. Ao desdobrar a interação houve diferença entre os tratamentos no dia do parto (Figura 3). Esse evento pode ser justificado pelo aumento nas concentrações de glicose sérica no dia zero, visto que existe correlação entre os dados obtidos (Figura 4).

De acordo com Santos e Santos (1998) nos últimos dias de gestação ocorre aumento nos teores de cortisol secretado pelo feto, o qual é o responsável pela sinalização do processo de parto. Além do cortisol, Grummer (1995) verificou que o aumento de glicocorticoides e glucagon promovem esgotamento do glicogênio hepático, o que deve ser o fator responsável pela elevação abrupta dos teores de glicose sanguínea no dia do parto, informação essa que condiz com os dados apresentados no presente trabalho. Sendo assim, a diferença entre os tratamentos se dá principalmente devido às características gliconeogênicas do glicerol, como já mencionados anteriormente.

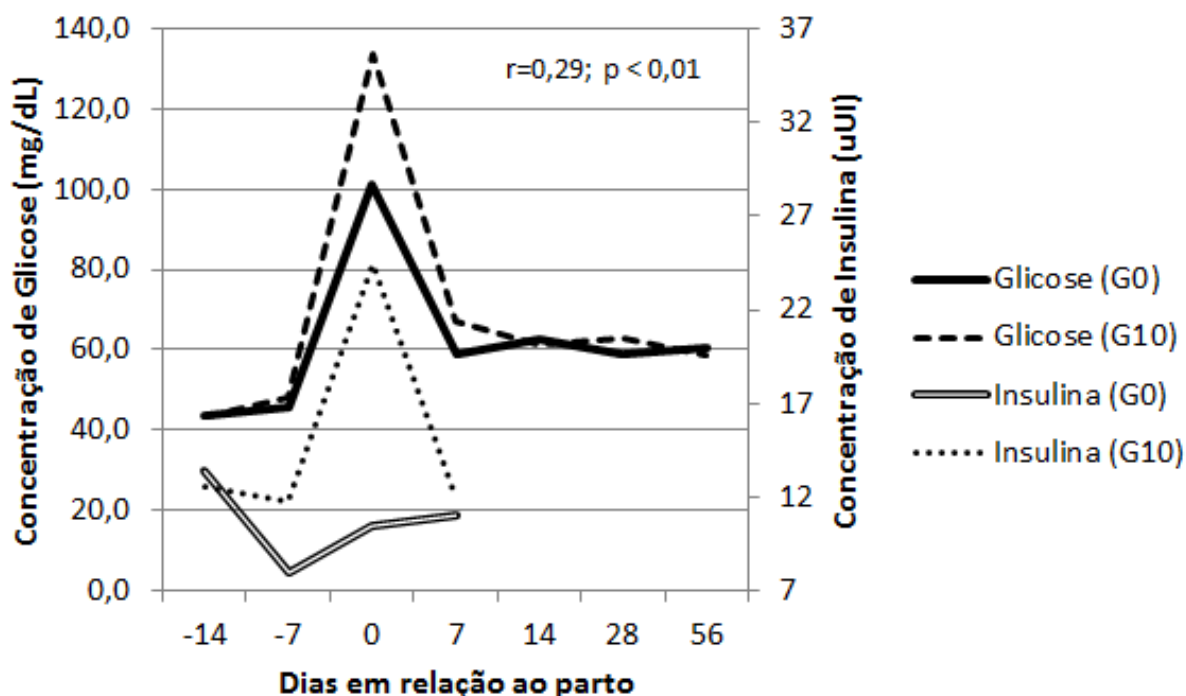


Figura 4 - Correlação entre a concentração sérica de glicose e insulina em ovelhas Santa Inês recebendo dietas contendo ou não glicerina bruta

De acordo com Vasquez-Anon et al. (1996), o tecido adiposo de vacas durante o período de transição torna-se mais refratário aos efeitos anabólicos da insulina no processo de lipólise, o que acaba exacerbando ainda mais o catabolismo nesses tecidos. Sendo assim, o aumento na concentração de insulina no dia do parto causado pelo tratamento em que foi adicionada glicerina bruta propiciou menor taxa de lipólise.

Com relação ao desempenho das crias, a inclusão de 10% de glicerina bruta nas dietas das ovelhas no terço final de gestação não influenciou o peso de

nascimento dos cordeiros (Tabela 21). De acordo com Mexia et al. (2004) a gestação da ovelha tem duração de aproximadamente 150 dias e no terço final ocorre cerca de 70% do crescimento do feto. Logo, o manejo nutricional inadequado nesse período pode acarretar em diminuição no peso ao nascimento dos cordeiros. Os resultados obtidos no presente experimento mostraram o potencial de uso da glicerina bruta em dietas de ovelhas nos últimos 50 dias de gestação sem prejudicar o peso de nascimento dos cordeiros.

Tabela 21 – Peso corporal, ganho de peso médio diário e consumo de concentrado inicial das crias em função da adição de glicerina bruta na dieta das ovelhas

Variáveis	Dietas ¹		EPM ²	Valor de P ³		
	G0	G10		Trat	Sem	T*S
Peso corporal (kg)						
Nascimento	4,29	4,07	0,10	0,16	-	-
2°- 8° semana	10,63	10,18	0,22	0,58	<0,01	0,89
Pós-desmame ⁴	18,21	17,82	0,41	0,98	0,02	0,88
CMS (kg/dia)						
2°-8° semana	0,14	0,18	0,01	0,17	<0,01	0,64
Pós-desmame ⁴	0,52	0,61	0,03	0,19	<0,01	0,11
GMD (g/dia)						
2°-8° semana	0,20	0,20	0,01	0,73	-	-
Pós-desmame ⁴	0,26	0,27	0,02	0,79	-	-

¹G0 = dieta sem adição de glicerina bruta; G10 = adição de 10% de glicerina bruta.

²EPM = Erro padrão da média

³Trat = Efeito do tratamento; Sem = efeito da semana; T*S = efeito da interação entre tratamento e semana.

⁴Pós desmame = corresponde a duas semanas após a desmama dos cordeiros

O peso corporal das crias, assim como o ganho de peso médio diário não foi influenciado pela adição de 10% de glicerina bruta nas dietas das ovelhas. Como as dietas experimentais não afetaram a produção e composição do leite era de se esperar o mesmo desempenho das crias.

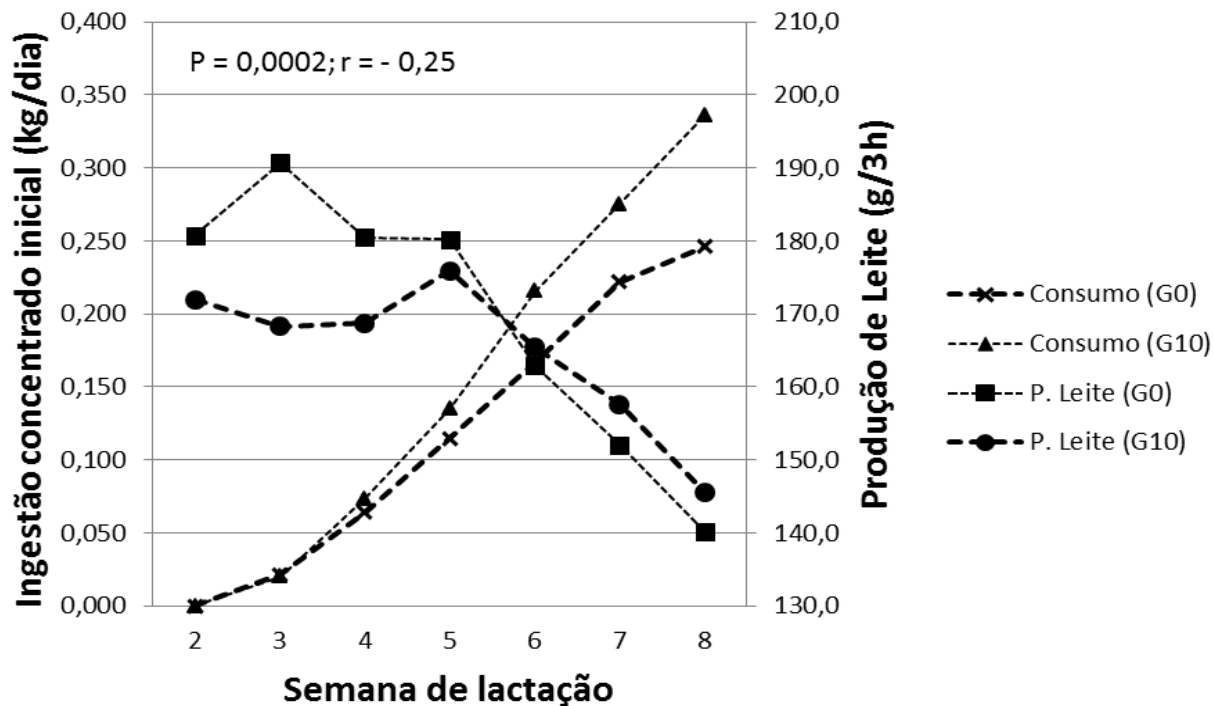


Figura 5 - Consumo de concentrado inicial pelos cordeiros e produção de leite das ovelhas.

De acordo com a Figura 5 é possível verificar correlação negativa ($P < 0,01$) entre a produção de leite das ovelhas e o consumo de concentrado inicial dos cordeiros.

Houve efeito de semana para as variáveis relacionadas ao desempenho das crias, porém não houve interação entre tratamento e semana.

6.4 Conclusão

A inclusão de 10% de glicerina bruta nas dietas de ovelhas no pré e pós-parto não prejudica o CMS, a produção de leite, o peso e o escore de condição corporal dos animais.

A inclusão de 10% de glicerina bruta na dieta de ovelhas em lactação diminui no teor de gordura do leite, mas não afeta a produção de gordura.

O desempenho das crias não foi afetado pela inclusão de glicerina bruta na dieta das ovelhas.

A utilização da glicerina bruta é uma excelente ferramenta para amenizar o balanço energético negativo das ovelhas no período periparto, diminuindo a

mobilização de gordura corporal e os riscos de esteatose hepática e toxemia da gestação/cetose.

Referências

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15th ed. Arlington, 1990. v. 1.

_____. **Official methods of analysis**. 16th ed. Gaithersburg, 1997. 1141p

AVILA, J.S.; CHAVES, A.V.; HERNANDEZ-CALVA, M. BEAUCHEMIN, K.A.; MCGINN, S.M.; WANG, Y.; HARSTAD, O.M.; MCALLISTER, T.A. Effects of replacing barley grain in feedlot diets with increasing levels of glycerol on in vitro fermentation and methane production. **Animal Feed Science and Technology**. Amsterdam, v.166, n.167, p.265-268, 2011.

BARHAM, D.; TRINDER, P. An improved colour reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system. **Analyst**, London, v. 97, p. 142-145, 1972

BAUMAN, D.E.; PEEL, C.J.; STEINHOOR, W.D.; REYNOLDS, P.J.; TYRRELL, H.F.; BROWN, A.C.G.; HAALAND, G.L. Effect of bovine somatotropin on metabolism of lactating dairy cows: influence on rates of irreversible loss and oxidation of glucose and non-esterified fatty acids. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 118, p. 1031-1040, 1988.

BODARSKI, R.; WERTELECKI, T.; BOMMER, F.; GOSIEWSKI, S. The changes of metabolic status and lactation performance in dairy cows under feeding tmr with glycerin (glycerol) supplement at periparturient period. **Electronic Journal Polish Agricultural Universities**. v.8, p.22–30, 2005.

CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; ROUEL, J.; LAMBERET, G. A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.86, p.1751-1770, 2003

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

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

DONKIN, S.S.; DOANE, P. Glycerol as a feed ingredient in dairy rations. Eds, 2007. TRI-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE, 2007.Ohio, USA, 2007. **Proceedings...** Ohio, USA, 2007. p. 97-103.

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

DOPPENBERG, J.; VAN DER AAR, P. The nutritional value of biodiesel by-products pt2: Glycerine. **Feed Business Asia**, Shanghai, v.1, n.1, p.42-43, 2007.

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

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

GONÇALVES, B.R.L; PEREZ, L.; ÂNGELO A.C.D. Glicerol: uma inovadora fonte de energia proveniente da produção de biodiesel. 22 May. Available at: <http://www.advancesincleanerproduction.net/second/files/sexsoes/5a/3/B.%20R.%20L.%20Gon%C3%A7alves%20-%20Resumo%20Exp.pdf>. [Accessed July 01, 2012], 2009.

GRIFFITHS, W.R. Treatment of pregnancy toxemia in ewes by oral administration of glycerol. **Veterinary Record**, London, v.64, p.734, 1952.

GRUMMER, R.R. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.76 p.3882-3896, 1993.

_____. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.73 p. 2820-2833, 1995.

HERDT, T.H. Fatty liver in dairy cows. **In The Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice**. v.4, n.2, 1988, p. 269

JOHNSON, R.B. The treatment of ketosis with glycerol and propylene glycol. **Cornell Veterinary**, Ottawa, v.44, p.6–21, 1954.

JOHNSON, M.M.; PETERS, J.P. Technical note: an improved method to quantify non-esterified fatty acids in bovine plasma. **Journal of Animal Science**, Champaign,, v. 71, p.753-764, 1993.

KREHBIEL, C.R. Ruminal and physiological metabolism of glycerin. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.86(E-Suppl. 2), p.392. (Abstr.), 2008.

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

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

MEXIA, A.A.; MACEDO, F.A.F.; ALCALDE, C.R.; SAKAGUTI, E.S.; MARTINS, E.N.; ZUNDT, M.; YAMAMOTO, S.M.; MACEDO, R.M.G. Desempenhos reprodutivos e produtivos de ovelhas Santa Inês suplementadas em diferentes fases da gestação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.33, n.3, p.658-667, 2004.

OSBORNE, V.R.; ODONGO, N.E.; CANT, J.P.; SWANSON, K.C.; MCBRIDE, B.W. Effects of supplementing glycerol and soybeans oil in drinking water on feed and water intake, energy balance, and production performance of periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.92, p.698-707, 2009.

PULINA, G.; NUDDA, A. Milk production. In: PULINA, G. **Dairy sheep feeding and nutrition**, Bologna, Avenue Media, 2002. p. 11-27.

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

RICO, D.E.; CHUNG, Y.-H.; MARTINEZ, C.M.; CASSIDY, T.W.; HEYLER, K.S.; VARGA, G.A. Effects of partially replacing dietary starch with dry glycerol in a lactating cow diet on ruminal fermentation during continuous culture. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.95, p.3310-3317, 2012.

SANTOS, J.E.P.; SANTOS F.A.P. Novas estratégias no manejo e alimentação de vacas pré-parto. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO ANIMAL, 10., 1998. Piracicaba, **Proceedings...** Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, . 1998, p.165-214.

SAS INSTITUTE. **Sas systems for Windows**: version 9. Cary, 2002.

SCHRÖDER, A., SÜDEKUM, K.-H. Glycerol as a by-product of biodiesel production in diets for ruminants. In: WRATTEN, N.; SALISBURY, P.A. (Ed.). *New Horizons or an Old Crop*. INTERNATIONAL RAPESEED CONGRESS, 10., 1999. Canberra, Australia. **Proceedings** ... Canberra, Australia, 1999. p. 241.

SUSIN, I.; LOERCH, S.C.; MCCLURE, K.E. Effects of feeding a high-grain diet at a restricted intake on lactation performance and rebreeding of ewes. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, n. 11, p. 3199-3205, 1995.

TERRÉ, M.; NUDA A.; CASADO P.; BACH, A. The use of glycerin in rations for light lamb during the fattening period. **Animal Feed Science and Technology**. Amsterdam, v.164, p. 262-267, 2011.

TYSON, K.S.; BOZELL, J.; WALLACE, R. Biomass oil analysis: research needs and recommendations. March 22, 2007. Available at: <http://www.nrel.gov/docs/fy04osti/34796.pdf> [Accessed June 15, 2012]. 2004.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.74, p.3583-3597, 1991.

VASQUEZ-ANON, M.; GRUMMER, R.R; BERTICS, S.; STAUFFACHER, R. Changes in adipose tissue responsiveness to insulin and estradiol-17 beta in periparturient dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.79 n.1, p.168, 1996.

WANG, C.; LIU, Q.; YANG, W.Z.; HUO, W.J.; DONG, K.H.; HUANG, Y.X.; YANG, X.M.; HE, D.C. Effects of glycerol on lactation performance, energy balance and metabolites in early lactation Holstein dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.151, p.12-20, 2009.

WILBERT, C.A.; PRATES, E.R.; BARCELLOS, J.O.J.; SCHAFHÄUSER, J. Crude glycerin as an alternative energy feedstuff for dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 183, p.116-123, 2013.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização da glicerina bruta como substituto ao milho em dieta de ovinos demonstrou resultados positivos nos teores de substituição adotados nos experimentos conduzidos. Isso se deve a qualidade da glicerina bruta utilizada, priorizando o teor de glicerol acima de 80%, visto que é o principal constituinte do co-produto e o que torna a glicerina bruta um potencial ingrediente energético para uso em dietas de ruminantes.

Foi possível notar ao longo dos experimentos que devido ao fato da glicerina bruta ser um líquido viscoso, quando adicionado em dietas com elevado teor de matéria seca (acima de 85%), confere características positivas às rações, como menor geração de pó, por incorporar micro partículas, melhorando a aceitabilidade pelos animais. A glicerina bruta também confere melhor homogeneidade à ração, assim como, menor segregação dos ingredientes.

Como foi observado nos experimentos de desempenho e metabolismo ruminal, a substituição parcial do milho pela glicerina bruta não prejudica o consumo de matéria seca, bem como o ganho médio diário, havendo efeito quadrático apenas no primeiro experimento. Portanto, é possível afirmar que a inclusão de glicerina bruta em substituição parcial ao milho tipo “flint” não prejudica o desempenho de ovinos, e tomando como base os resultados dos experimentos, bem como os resultados da literatura consultada, a glicerina bruta pode ser adicionada em até 10% da MS.

Com relação ao experimento realizado com as ovelhas durante o terço final de gestação e lactação, a utilização de 10% de glicerina bruta demonstrou ser uma alternativa para minimizar a extensão e intensidade do balanço energético negativo das ovelhas durante o período de pré e pós-parto, prevenindo assim a ocorrência de distúrbios metabólicos, como, toxemia da gestação. Além desses benefícios, o consumo de matéria seca, a produção de leite e o desempenho das crias não foram prejudicados pela inclusão do co-produto.

Considerando todos os dados apresentados, a inclusão de 10% de glicerina bruta, com teor de glicerol acima de 80%, em substituição parcial ao milho, demonstrou resultados positivos em dietas de cordeiros e ovelhas.