

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

GLICERINA ASSOCIADA À UREIA NA ALIMENTAÇÃO DE
BOVINOS NELORE

André Pastori D`Aurea
Zootecnista

2014

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

**GLICERINA ASSOCIADA À UREIA NA ALIMENTAÇÃO DE
BOVINOS NELORE**

André Pastori D`Aurea

Orientadora: Profa. Dra. Jane Maria Bertocco Ezequiel

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

2014

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

**ANDRÉ PASTORI D`AUREA** – nascido em 24 de março de 1985, na cidade de Araraquara, estado de São Paulo. Filho de André D`Aurea Neto e Angela Maria Pastori D`Aurea. Ingressou no curso de Zootecnia na Faculdade de Ciencias Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista/ Unesp – campus de Jaboticabal, em março de 2003. Foi bolsista de auxílio a pesquisa pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), também foi bolsista de iniciação científica pela Fundação de Amparo a Pesquisa de estado de São Paulo (Fapesp). Graduou-se em dezembro de 2007. Em março de 2008, ingressou no Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/ Unesp – campus de Jaboticabal. Foi bolsista da Fundação de Amparo a Pesquisa de estado de São Paulo (Fapesp). Em fevereiro de 2010 obteve o Título de Mestre em Zootecnia. Em março de 2010 inicia o curso de doutorado pela mesma instituição. Foi bolsista Fapesp, recebendo o Título de Doutor em Zootecnia em Fevereiro de 2014.

“São nas dificuldades da vida que aprendemos as melhores lições. Nunca desanime e siga sempre em frente porque depois das dificuldades vêm as melhoras e recompensas” (Angela Maria Pastori D’Aurea).

Ao meu Pai André D'Aurea Neto que sempre esteve do meu lado nas minhas conquistas e nas minhas dificuldades, e, que, assim também foi no momento em que

Deus o levou...

Obrigado por tudo meu Pai...

Espero um dia ser para meus filhos como e Senhor foi pra mim...

Que assim seja!

DEDICO...

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter abençoado meu trabalho na realização deste experimento, dando forças para eu sempre continuar;

A Faculdade de Ciência Agrárias e Veterinária, câmpus de Jaboticabal e ao programa de Pós-graduação do curso de Zootecnia pela oportunidade de realizar o curso de Doutorado;

A Profa Jane Maria Bertocco Ezequiel pela orientação e companheirismo;

A minha Mãe e meu Pai que sempre estiveram ao meu lado apoiando e incentivando;

Aos colegas da Unidade Animal que sempre me ajudaram;

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo, pela concessão de minha bolsa de estudo (processo 2010/11223-2);

A empresa Caramuru pelo fornecimento dos ingredientes;

A Elisa Marcela de Oliveira D'Aurea minha esposa maravilhosa, te amo!!!

OBRIGADO!!!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	ii
ABSTRACT	iii
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
__ Introdução	1
__ Revisão de literatura	3
__ Indústria do Biodiesel	3
__ Glicerina na Alimentação Animal.....	4
__ Ureia para Bovinos	8
__ Objetivo geral	9
__ Objetivos específicos	9
__ Referências	9
CAPÍTULO 2 – GLICERINA BRUTA ASSOCIADA À UREIA NA TERMINAÇÃO DE NOVILHAS DA RAÇA NELORE: CONSUMO, DESEMPENHO E CARACTERÍSTICAS DA CARNE	13
__ Introdução	15
__ Material e métodos	16
__ Resultados e discussão.....	21
__ Conclusão	25
__ Referências	26
CAPÍTULO 3 - GLICERINA ASSOCIADA À UREIA NA TERMINAÇÃO DE BOVINOS: PARÂMETROS RUMINAIS, DIGESTIBILIDADE E MASSA MICROBIANA	29
__ Introdução	31
__ Material e métodos	32
__ Resultados e discussão.....	37
__ Conclusão	43
__ Referências	43
CAPÍTULO 4 - IMPLICAÇÕES	47

GLICERINA ASSOCIADA À UREIA NA ALIMENTAÇÃO DE BOVINOS NELORE

RESUMO - O objetivo desta pesquisa foi verificar a combinação de glicerina com ureia na dieta de bovinos da raça Nelore, quanto ao desempenho produtivo, características da carne, parâmetros ruminais, digestibilidade e massa microbiana. O estudo foi dividido em dois experimentos. No primeiro experimento, 28 novilhas (raça Nelore, peso corporal inicial = 277kg, 20 meses de idade) foram distribuídas de forma inteiramente casualizada em quatro tratamentos, onde foram testadas as dietas experimentais. C = controle sem glicerina e ureia; U= 1% de ureia na matéria seca; G10= 10% de glicerina matéria seca; GU10= 10% de glicerina e 1% de ureia na matéria seca. Durante 100 dias de confinamento, avaliou-se o consumo de matéria seca, ganho em peso e eficiência alimentar. Após este período houve o abate dos animais, onde foi obtido o rendimento de carcaça quente, espessura de gordura, área de olho de lombo e retiradas amostras de carne. No segundo experimento, foram acrescentadas duas novas dietas: G20= 20% de glicerina na matéria seca e GU20= 20% de glicerina e 1% de ureia na matéria seca. Seis animais da raça Nelore providos de cânulas ruminais foram utilizados para verificar os parâmetros pH, nitrogênio amoniacal, a digestibilidade e a massa microbiana, distribuídos em quadrado latino 6x6. As dietas influenciaram ($p<0,05$) os parâmetros ruminais estudados. Ocorreu diminuição na digestibilidade da fibra em detergente neutro e da hemicelulose nas dietas com glicerina. A massa microbiana foi alterada com as dietas, sendo observados efeitos de tempo e de tratamentos ($p<0,05$). O consumo, desempenho e as características da carne não foram influenciados pelas dietas. A glicerina diminui a digestibilidade da fração fibrosa. Há influência de dietas no crescimento dos microrganismos ruminais, no pH e nitrogênio amoniacal ruminal, o que não ocasiona efeito no desempenho e na qualidade da carne.

Palavras-chave: biodiesel, carne, desempenho, digestibilidade

CRUDE GLYCERIN ASSOCIATED WITH UREA IN CATTLE FEED

ABSTRACT - The objective of this research was to investigate the combination of glycerol with urea in the diet of Nelore cattle, as the productive performance, meat characteristics, ruminal fermentation, digestibility and microbial mass. The study was divided into two experiments. In the first experiment, 28 heifers (20 months Nelore breed, initial body weight = 277kg,) were distributed so entirely casualizada to four treatments which were tested diets you experience. C = control without glycerin and urea, U = 1 % urea in dry matter; G10 = 10 % glycerin dry matter; GU10 = 10 % glycerin and 1 % urea in dry matter. During 100 days of confinement, evaluated the dry matter intake, weight gain and feed efficiency. After this period there was the slaughter of animals, which was obtained by the hot carcass yield, fat thickness, ribeye area and removed meat samples. The second experiment added two new diets: G20 = 20 % glycerin in dry and GU20 = 20 % glycerin and 1 % urea in dry matter. Six animals fitted with rumen cannulas Nelore were used to verify the parameters pH, ammonia nitrogen, digestibility and microbial mass distributed in a 6x6 Latin square. The glycerin decreases the digestibility of the fiber. There influence of diets on the growth of rumen microorganisms in rumen pH and ammonia nitrogen, which does not cause effect on performance and meat quality.

Keywords: biodiesel, beef, performance, digestibility

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

Introdução

De acordo com o IBGE (2013), o rebanho bovino brasileiro é o maior rebanho comercial do mundo, e conta com um efetivo de aproximadamente 212,8 milhões de cabeças. No ano de 2012, o abate de 31,118 milhões de bovinos representou um recorde no número total de animais abatidos.

Os principais Estados que contribuíram para o aumento desta produção foram: Mato Grosso, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, São Paulo e Goiás. O Estado do Mato Grosso merece destaque, pois além de ser o Estado de maior produção, ocorreu incremento no abate de categorias jovens (com até 2 anos: novilhos e novilhas). Tal fato ocorreu devido à maior oferta de animais confinados e mudança de posicionamento no mercado por parte de alguns frigoríficos que optaram pelo abate de animais precoces, estimulando o crescimento da produção de bovinos em sistemas confinados.

Dentre os principais consumidores da carne bovina brasileira estão: Rússia (18%), Egito (14%), Venezuela (12%), Hong Kong (9%), Irã (8%), Chile (8%), China (4%), Itália (3%), Líbia (3%) e Arábia Saudita (2%), os quais foram responsáveis por 82% das exportações de carne bovina *in natura* do Brasil (IBGE, 2013).

Muitos são os estudos com o objetivo de diminuir os custos com alimentação de bovinos confinados, a principal preocupação dos confinadores brasileiros, pois podem atingir 70% do custo total (PACHECO et al., 2006). Dentre os principais está o uso de subprodutos e coprodutos da indústria de óleos e biodiesel, a utilização destes resíduos como fonte alternativa na alimentação animal é extremamente viável, pois aproveita resíduos agrícolas, diminui o custo de produção e não compete com ingredientes utilizados na alimentação humana.

O uso de subprodutos e coprodutos da indústria do biodiesel na alimentação de bovinos, tais como tortas e farelos, é muito importante, haja visto sua grande disponibilidade em determinadas regiões do país, onde os preços desses

subprodutos são bem atrativos. Assim, o aproveitamento de subprodutos ou co-produtos provenientes das indústrias e da agricultura, se combinados de forma adequada, podem permitir não só o aumento na produção de carne, mas também a redução significativa nos custos da alimentação.

A partir de 13 de janeiro de 2005, em virtude da Lei Federal 11.097, todo óleo diesel deve conter obrigatoriamente 2% de biodiesel a partir do ano de 2008. No ano de 2013 a inclusão deve chegar a 5% (MCT, 2005). Assim, o governo federal incentivou a produção de biodiesel através do Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel, que tem como objetivo produzir biodiesel de forma rentável, promovendo também inclusão social e desenvolvimento regional. (SUAREZ & MENEGHETTI, 2007). Atualmente, o Brasil está entre os maiores produtores e consumidores de biodiesel do mundo (ANP, 2012).

Dentre as principais preocupações existentes na cadeia do biodiesel é o excedente de glicerina bruta gerado pela produção. Segundo GONÇALVES (2008) a glicerina corresponde a cerca de 10% da massa total resultante no processo de produção do biodiesel e não havendo legislação específica para o descarte, sendo armazenada e conseqüentemente se acumulando nas usinas de produção de biodiesel, gerando grandes estoques de glicerina. O Brasil produz em torno de 240 milhões de litros de glicerina bruta e possui demanda de aproximadamente 40 milhões de litros, gerando excedente de 200 milhões de litros.

A glicerina pode ser utilizada como uma fonte energética alternativa na alimentação animal, particularmente para ruminantes, onde o glicerol pode ser disponibilizado diretamente para produção de ácidos graxos de cadeia curta (propionato) que são absorvidos no rúmen para obtenção de energia (DONKIN, 2008).

Revisão de literatura

Indústria do Biodiesel

Estudos apontam que a utilização da biomassa para fins energéticos vem tendo participação crescente perante a matriz energética mundial, levando as estimativas de que até o ano de 2050 deverá dobrar o uso mundial de biomassa disponível (FISCHER, 2001).

As principais vantagens da utilização de combustíveis verdes em substituição aos derivados de petróleo na matriz energética mundial são: diminuir a emissão de gases, diversificação da matriz energética, oportunidades de emprego e renda para a população rural, economia de divisas.

O biodiesel é o produto da transformação química do óleo vegetal ou gordura animal através de uma reação de transesterificação, que ocorre por adição de álcool (metanol ou etanol) na presença de um catalisador (NaOH ou KOH). O produto da transesterificação é uma massa constituída por duas fases que podem ser separadas por decantação ou centrifugação. A fase mais densa é a glicerina bruta, e a menos densa é o biodiesel.

A glicerina, resíduo da produção do biodiesel brasileiro, possui em média 81,2% de glicerol, 4,76% de cinzas, 0,33% de metanol, 0,01% de proteína bruta, 0,33% de extrato etéreo, 232 mg de água /kg, 11634,4 mg de sódio/ kg, 79,1 mg de potássio /kg, 35,8 mg de cálcio /kg, 16,3 mg de magnésio /kg, 239,8 mg de fósforo /kg e 3656 cal de energia bruta /g (TECPAR, 2010).

MARZULO (2007) fez um estudo das emissões atmosféricas decorrentes do uso de biodiesel nas misturas B2, B5, B20 e B100. Este estudo abrangeu toda a cadeia de produção desde o preparo do solo, passando pela cultura da soja e produção do óleo, e este sendo transformado em biodiesel por meio de reações de transesterificação. MORAES & PEREIRA (2009) fizeram uma estimativa das emissões atmosféricas para o cenário atual da demanda de biodiesel e futura projeção para outros possíveis cenários que envolvem crescimento de frota de

veículos com motor a diesel, com consequente aumento no consumo de combustível e expansão agrícola. Concluíram que o sequestro de CO₂ ocorre a partir de misturas iguais ou superiores ao B20 e que para outros gases as emissões não apresentaram diferença, independente da mistura utilizada.

Glicerina na Alimentação Animal

O potencial de uso da glicerina na alimentação animal é baseado no fato de ser uma substância gliconeogênica, podendo aumentar o suprimento de precursores da glicose (DONKIN, 2008).

De acordo com a *Food and Drug Administration* (FDA, 21 C.F.R. 582.1320), a glicerina proveniente da produção de biodiesel pode ser utilizada na alimentação animal quando o resíduo do metanol na glicerina não ultrapassa 150 mg/kg de glicerina.

Nenhuma restrição legal foi relatada para a inclusão de glicerina na alimentação animal, quer seja considerada a espécie animal ou a quantidade a ser fornecida (ANONYMOUS, 1995), mas o conhecimento da qualidade deste subproduto e seu potencial de utilização devem ser investigados.

Segundo DONKIN (2008), a glicerina pode ser utilizada como uma fonte energética alternativa na alimentação animal, particularmente para ruminantes, onde o glicerol pode ser disponibilizado diretamente para produção de ácidos graxos de cadeia curta que são absorvidos no rúmen para obtenção de energia.

A glicerina é de natureza higroscópica, podendo aumentar a capacidade de retenção de água das rações em ambientes de baixa umidade e melhorar a palatabilidade da dieta (ELAM et al., 2008).

Os primeiros estudos com a finalidade de entender a fermentação do glicerol no rúmen foram realizados por JOHNS (1953) que concluiu que este é quase que totalmente fermentado a propionato. BERGNER et al. (1995) usaram o glicerol marcado com C14 e comprovaram que o glicerol foi convertido em sua maior parte em ácido propiônico. Para DONKIN (2008), no rúmen o glicerol é fermentado e

transformado principalmente em ácido propiônico e desaparece em menos de seis horas, quando incluso em até 25% da dieta. Este fato pode ser explicado pela taxa de fermentação do glicerol no rúmen e sua possível eficiência de utilização, superior a outras fontes energéticas. Segundo KREHBIEL (2008), os possíveis destinos do glicerol em ruminantes são: passagem (13%), fermentação ruminal (44%) e absorção direta (43%).

No intestino o glicerol é absorvido pelas células intestinais através de absorção passiva (GUYTON, 2002), seguindo para o fígado, onde é metabolizado. A enzima glicerol quinase converte o glicerol em glicerol-3-fosfato e ADP, sendo esta uma etapa intermediária da produção de glicose por gliconeogênese (LEHNINGER, 2007).

Com a finalidade de esclarecer a fermentação ruminal do glicerol, LEE et al. (2011) estudaram diferentes ingredientes com inclusão de glicerol para bovinos, utilizando-se de fermentação *in vitro* e produção de gás metano. Os tratamentos foram: glicerol, feno, feno + 20% de glicerol, milho, milho + 20% de glicerol. Os autores concluíram que a suplementação com glicerol pode diminuir a produção de metano e aumentar a eficiência energética dos ingredientes testados, devido ao aumento na produção de propionato pela inclusão do glicerol na dieta. Também *in vitro*, ABO EL- NORB et al. (2010) avaliaram a fermentação ruminal e a quantidade de bactérias ruminais quando diferentes concentrações de glicerol substituíram o milho da dieta. Para tal os autores utilizaram quatro fermentadores contínuos e quatro dietas experimentais. As dietas continham: 0%, 3,6%, 7,2, e 10,8% de glicerol na matéria seca. Os autores não encontraram diferenças significativas nos valores de pH ruminal e de nitrogênio amoniacal. Porém, a digestibilidade da FDN foi diminuída com a inclusão de 7,2 e 10,8% na matéria seca da dieta. A concentração de DNA das bactérias *B. fibrisolvens* and *S. ruminantium* também foi diminuída com o glicerol. Assim os autores concluíram que altas concentrações de glicerol na dieta (> 7,2%) podem alterar a digestão, a fermentação e a população bacteriana.

O efeito do glicerol em bezerros foi testado por RAMOS & KERLEY (2012), com o objetivo de avaliar possíveis alterações na formação do rúmen. Assim, avaliaram o crescimento de bezerros alimentados com diferentes concentrações de glicerol na dieta, com concentração máxima de 20% de glicerol na matéria seca. Os

autores concluíram que o glicerol não teve efeito sobre o crescimento dos animais e desenvolvimento ruminal, mesmo quando incluídos 20% na matéria seca. Neste mesmo trabalho os autores avaliaram a produção de ácidos graxos de cadeia curta, e encontraram diminuição na proporção acetato/propionato.

O uso da glicerina muitas vezes é contestado por possuir metanol em sua constituição que pode ser tóxico para fígado, rins e sistema nervoso central. LEÃO et. al (2012) verificaram a possível ação tóxica da glicerina e do metanol por análises histopatológicas do sistema nervoso central (SNC), fígado, rúmen, intestino delgado e rim de 24 bovinos confinados por 84 dias, consumindo rações contendo até 24% de glicerina bruta na matéria seca (MS), a qual apresentava 80,35% de glicerol, e <0,01% de metanol. Concluíram que a glicerina utilizada não comprometeu o desempenho dos animais e esta não teve efeito tóxico nos órgãos estudados. Da mesma forma, CAVALHEIRO et. al (2011) avaliaram modificações anatômicas e histológicas do fígado e rim (principais órgãos do metabolismo digestivo) de novilhas da raça Nelore terminadas em confinamento recebendo 0, 10 e 20% de glicerina (<0,01% de metanol) na matéria seca da dieta. Foram realizadas avaliações visuais, medidas de peso e área celular do fígado e rins. A inclusão de glicerina na dieta não influenciou os órgãos avaliados.

Considerando a grande importância da atividade de produção de biodiesel no Brasil, aliada à produção de bovinos de corte, acredita-se que este subproduto possa ser utilizado como fonte energética alternativa em dietas para terminação de bovinos em confinamento.

PYATT et al. (2007) substituíram 10% do milho da dieta de terminação de novilhos cruzados por glicerina, e observaram maiores ganhos de peso e melhor conversão alimentar para os animais que receberam a glicerina. Concluíram que a glicerina na dieta pode melhorar a eficiência de animais alimentados com dietas com alto concentrado. BARTON et al. (2013) também substituíram um ingrediente energético por glicerina, porém farelo de cevada. Os tratamentos foram 0, 4,7 e 9,3% de glicerina em substituição ao farelo de cevada, além de um tratamento onde os animais recebiam 9,3% de glicerina 118 dias após a adaptação. O período total de confinamento foi de aproximadamente 280 dias. As dietas não diferiram quanto ao crescimento, características de carcaça e da carne, fluidos sanguíneos e

ruminais.

PARSONS et al. (2008), que forneceram glicerina bruta para novilhas de corte com níveis de inclusão de 0, 2, 4, 8, 12 ou 16% na dieta, observaram que para os níveis de inclusão de até 8%, os animais tiveram maiores ganhos de peso. Os animais que receberam dietas com concentrações mais elevadas apresentaram redução no consumo de matéria seca, porém essa menor ingestão não afetou a eficiência de ganho nos que consumiram dietas com 12% de glicerina.

MACH et al. (2009) avaliaram o desempenho e a qualidade da carne de bovinos da raça Holandesa, confinados, recebendo 0, 4, 8 e 12% de glicerina bruta em substituição a cereais. Os autores concluíram que a inclusão de até 12% não interfere no desempenho, fermentação ruminal, metabolismo e variáveis qualitativas de carcaça e carne e que a glicerina pode ser utilizada na terminação de bovinos confinados. Também com terminação de novilhas, D' AUREA (2010), com inclusões de glicerina fixadas em 10 e 20% de glicerina na matéria seca. A glicerina melhorou a eficiência alimentar quando incluída 20% na dieta. Não houve diferença nas características da carcaça e na qualidade da carne. Neste mesmo trabalho foi estimado o coeficiente de digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes das dietas, sendo constatado que nas dietas com glicerina a digestibilidade da fibra diminuiu.

VAN CLEEF (2012) utilizou níveis crescentes de inclusão de glicerina para terminação de bovinos da raça Nelore, 0; 7,5; 15; 22,5 e 30% de glicerina na matéria seca da dieta. As mesmas dietas também foram testadas em animais canulados, onde foram avaliados parâmetros ruminais, fermentativos e população microbiana. Concluiu que a inclusão de até 30% de glicerina deprime a digestibilidade e degradabilidade da fibra, diminui a produção de CH_4 e CO_2 e interfere negativamente na produção de bactérias sólido-aderidas, não promovendo alterações nas variáveis de desempenho e características da carcaça, além de melhorar a qualidade da carne dos animais.

A utilização de subprodutos de origem animal para alimentação de ruminantes é proibida no Brasil, Portaria GM/MS n. 216, de 11 de julho de 1997, como medida de prevenção ao Mal da Vaca Louca. Portanto, glicerina proveniente de sebo não pode ser usada na alimentação de ruminantes.

Ureia para Bovinos

A utilização da ureia na alimentação de ruminantes é interessante, principalmente em sistemas confinados, onde a dieta deve ser eficiente e com baixo custo. As vantagens de uso da ureia em ruminantes são: tecnologia simples e acessível, fonte de nitrogênio não-proteico, baixo custo de implantação, redução das perdas de peso dos animais no período seco, alternativa na formulação de rações para confinamento (LOPES, 1998).

A eficiência da utilização do nitrogênio não-proteico pelos microrganismos é maior quando utilizada em dietas com baixo nível de nitrogênio e elevados níveis de energia, sendo o amido uma das fontes de energia mais satisfatórias, por ser fermentado à taxa de degradação relativamente constante e rápida. Os farelos proteicos naturais, como os de algodão, soja e girassol, são eficientes na suplementação proteica, contudo possuem custo maior por unidade de nitrogênio quando comparado a outras fontes de nitrogênio não-proteico como a ureia (SWINGLE et al., 1977).

O nitrogênio da dieta, seja de origem não-proteica ou proteica, é utilizado pelos microrganismos do rúmen e transformado em proteína de boa qualidade. A capacidade das bactérias de utilizarem o nitrogênio não-proteico (NNP) depende da quantidade e do nível de degradação da energia fornecida ao animal (carboidratos) e da capacidade de crescimento da população de microrganismos, limitado pela energia (GOLOMBESKI, 2006).

Segundo CERRATE et al (2006), a glicerina servir como fonte de energia e esta pode ter efeitos positivos sobre a retenção de aminoácidos ou nitrogênio, além de servir como fonte de energia. O glicerol no rúmen é utilizado em até seis horas e aproveitado quase que em sua totalidade (DONKIN, 2008), portanto a capacidade de utilização do nitrogênio não-proteico pode ser aumentada quando utilizado com glicerina, pois estes são rapidamente fermentados no rúmen, melhorando as condições para o crescimento de microorganismos ruminais.

A glicerina é um ingrediente exclusivamente energético, utilizado em substituição ao milho, sorgo e outros alimentos energéticos da dieta. Uma vez que não possui proteína em sua composição, sua inclusão em substituição ao milho deve ser acompanhada pela inclusão de alimentos ricos em proteína.

Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da associação da glicerina à ureia em dietas para terminação de bovinos da raça Nelore.

Objetivos específicos

1. Avaliar o desempenho de novilhas da raça Nelore terminadas em confinamento com diferentes proporções de glicerina e ureia nas dietas.
2. Avaliar a qualidade da carne de novilhas da raça Nelore terminadas em confinamento com diferentes proporções de glicerina e ureia nas dietas.
3. Avaliar os parâmetros ruminais, digestibilidade e qualidade da massa microbiana de dietas com diferentes proporções de glicerina e ureia.

Referências

ABO EL-NORB, S. A.; ABUGHAZALEHA, A. A.; POTUA, R. B.; HASTINGS, D.; KHATTABB, M. S. A. Effects of differing levels of glycerol on rumen fermentation and bacteria. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 162, n. 3-4, p. 99–105, 2010.

ANONYMOUS, 1995. **Futtermittelrecht mit einschlägigen Bestimmungen, Bundesgesetzen, Verordnungen**, Erlassen und recht der Eruopäischen Union, 2nd edition, supplement 6, F-4, appendix I, 12a, Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin.

ANP (AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS). **O biodiesel obrigatório**. Brasília, DF, 2012. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/?pg=46827&m=&t1=&t2=&t3=&t4=&ar=&ps=&cachebust=1332436377294>>. Acesso em: 12 maio 2013.

BARTON, L.; BURES, D.; HOMOLKA, P. ; JANCIK, F.; MAROUNEK, M.; REHAK, D. Efectts of long-term feeding of crude glycerin on performance, carcass traits, and blood and rumen metabolites of finishing bulls. **Livestock Science**, v. 155, n. 1, p. 53-59, 2013.

BERGNER, H.; KIJORA, C.; CERESNAKOVA, Z.; SZAKACS, J. In vitro studies on glycerol transformation by rumen microorganisms. **Archiv für Tierernährung**, [S.l.], v. 48, p. 245- 256, 1995.

CAVALHEIRO, L. G.; EZEQUIEL, J. M. B.; D'AUREA, A. P.; VARGAS, G.; FAVARO, V. R.; VAN CLEEF, E. H. C. B. Glicerina na dieta de novilhas de corte terminadas em confinamento: peso e citometria de fígado e rim. In: Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, Salvador, BA, **Anais...** Salvador, BA: Sociedade Brasileira de Zootecnia. Universidade federal da Bahia, 2011.

CERRATE, S.; YAN, F.; WANG, Z.; COTO, C.; SACAKLI, P.; WALDROUP, P. W. Evaluation of glycerine from biodiesel production as a feed ingredient for broilers. **International Journal of Poultry Science**, Faisalabad, v. 5, n. 11, p. 1001-1007, 2006.

D'AUREA, A. P. **Glicerina, resíduo da produção de biodiesel, na terminação de novilhas da raça Nelore**. 2010, 47 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2010.

DONKIN, S. S. Glicerol from biodiesel production: the new corn for dairy cattle. **Brazilian Journal of Animal Science**, São Paulo, v. 37, p. 280-286, 2008. Supplement.

DRACKLEY, J. K.; RICHARD, M. J.; BEITZ, D. C.; YOUNG, J. W. Metabolic changes in dairy cows with ketonemia in response to feed restriction and dietary 1,3-butanediol. **Jounal of Dairy Science**, New York, v. 75, n. 6, p. 1622-1634, 1992.

ELAM, N. A.; ENG, K. S.; BECHTEL, B.; HARRIS, J. M.; CROCKER, R. Glycerol from biodiesel production: considerations for feedlot diets. **Proceedings of the Southwest Nutrition Conference**, Tucson, n. 21, 2008. Tempe AZ.

EL-NORB, S. A.; ABUGHAZALEHA, A. A.; POTUA, R. B.; HASTINGS, D.; KHATTABB, M. S. A. Effects of differing levels of glycerol on rumen fermentation and

bactéria. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 162, n. 3-4, p. 99–105, 2010.

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

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

GOLOMBESKI, G. L.; KALSCHEUR, K. F.; HIPPEN, A. R.; SCHINGOETHE, D. J. Slow-release urea and highly fermentable sugars in diets fed to lactating dairy cows. **Journal Dairy Science**, New York, v. 89, n. 11, p. 4395-4403, 2006.

GUYTON, A. C. **Tratado de fisiologia médica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2002. 1264 p.

KREHBIEL, C. R. Ruminant and physiological metabolism of glycerol. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, p. 392, 2008. Especial.

LEÃO, J. P.; RAMOS, A. T.; MARUO, V. M.; SOUZA, D. P. M.; NEIVA, J. N. M.; RESTLE, J.; MORON, S. E. Anatomopatologia de amostras de bovinos alimentados com glicerol. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 7, p. 1253-1256, jul. 2012.

LEE, S. Y.; LEE, S. M.; CHOA, Y. B.; KAMB, 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.

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

LOPES, H. O. S. **Suplementação de baixo custo para bovinos: mineral e alimentar**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1998. 107 p.

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

MARZULO, R. C. M. **Análise da ecoeficiência dos óleos vegetais oriundos de soja e palma, visando a produção de biodiesel**. São Paulo: EDUSP, 2007. 302 p.

MCT (MINISTÉRIO DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA). **Aspectos tecnológicos do biodiesel**. Brasília, DF, 2005. Grupo de Trabalho Interministerial – biodiesel. Disponível em: <<http://www.biodiesel.gov.br>>. Acesso em: 03 maio 2013.

MORAES, A. E. M.; PEREIRA, E. B. **Cenário de emissões atmosféricas decorrentes do emprego de biodiesel de soja**. [S.l.]: Instituto Nacional de

Pesquisas Espaciais, Centro de Previsão do Tempo e Estudos Climáticos, 2009. Boletim.

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

PARSONS, G. L.; SHELOR, M. K.; DROUILLARD, J. S. Performance and carcass traits of finishing heifers fed crude glycerin. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 87, n. 2, p. 653-657, 2009.

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

RAMOS, M. H.; KERLEY, M. S. Effect of dietary crude glycerol level on ruminal fermentation in continuous culture and growth performance of beef calves. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 90 n. 3, p. 892-899, 2012.

SAUER, F. D. ; ERFLE J.D.; FISHER, L.J. Propylene glycol and glycerol as a feed additive for lactating dairy cows: an evaluation of blood metabolite parameters. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 53, n. 2, p. 265-271, 1973.

SUAREZ, P. A. Z.; MENEGHETTI, S. P. M. 70º Aniversário do biodiesel em 2007: Evolução histórica e situação atual no Brasil. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 8, p. 2068-2071, 2007.

SWINGLE, R. S.; ARAIZA, A.; URIAS, A. R. Nitrogen utilization by lambs fed wheat straw alone or with supplements containing dried poultry waste, cottonseed meal or urea. **Journal Animal Science**, Savoy, v. 45, n. 6, p. 1435-1441, 1977.

TECPAR (INSTITUTO DE TECNOLOGIA DO PARANÁ). **Relatório de ensaio**: produto glicerina. Curitiba, 2010.

U. S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). **Code of federal regulations, Title 21**. Silver Spring, 2006. v. 6, 1320 p.

VAN CLEEF, E. H. C. B. **Glicerina bruta em dietas para bovinos da raça nelore confinados**, 2012. 129 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2012.

VILELA, H.; SILVESTRE, J. R. A. **Uréia**: informe técnico. Brasília: EMBRATER, 1985. 57 p.

CAPÍTULO 2 – Glicerina bruta associada à ureia na terminação de novilhas da raça Nelore: consumo, desempenho e características da carne

Resumo: Objetivou-se nesta pesquisa avaliar os efeitos da combinação de glicerina bruta e ureia, sobre o consumo, desempenho produtivo e características da carne de bovinos da raça Nelore. O estudo foi conduzido no confinamento do Setor de Digestibilidade, pertencente à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-FCAV/Unesp, Câmpus de Jaboticabal. Para tal, 28 novilhas, da raça Nelore, (n=28, com aproximadamente 20 meses de idade, $277 \pm 5,6$ kg), foram aleatoriamente distribuídas em quatro tratamentos e sete repetições, utilizando-se de delineamento inteiramente casualizado. Quatro dietas com energia metabolizável e proteína bruta semelhantes, foram formuladas utilizando a proporção volumoso:concentrado de 30:70. O volumoso utilizado foi silagem de milho e os concentrados foram compostos por milho grão moído, casca de soja, farelo de girassol, e a utilização ou não de acordo com o tratamento de glicerina e ureia. A introdução da glicerina e de ureia na dieta foi fixada respectivamente em 10 e 1 % de inclusão na matéria seca da dieta. Os tratamentos foram: C = controle sem glicerina e ureia; U= 1% de ureia na matéria seca; G10= 10% de glicerina matéria seca; GU10= 10% de glicerina e 1% de ureia na matéria seca. A introdução de 10% de glicerina bruta, com ou sem a presença de ureia não modificou o consumo, tampouco nenhuma variável do desempenho produtivo ($P>0,05$). As características físico-químicas da carne bem como o perfil de ácidos graxos também não foram modificados. O desempenho dos animais e as características da carne foram satisfatórios. e dentro dos padrões esperados encontrados na literatura. Assim, a associação de 10% glicerina com 1% de ureia pode ser uma estratégia viável em sistemas de produção de bovinos confinados.

Palavras-chave: biodiesel, glicerol, NNP, qualidade da carne

Glycerin associated with urea in finishing beef cattle : performance and meat characteristics

Abstract: The aim of this research was to investigate the combination of glycerol with urea, as the production and nutritional performance of Nelore cattle . The work was conducted within the confines of the digestibility sector , belonging to the Faculty of Agricultural Sciences and Veterinárias-FCAV/Unesp campus Jaboticabal . 28 heifers, Nelore , with approximately 20 months of age with an average body weight of 278 kg were allotted to four treatments using a completely randomized design. Four diets with similar metabolizable energy and crude protein were formulated using the forage : concentrate ratio of 30:70 . The roughage used was corn silage . The concentrates used were composed of corn, soybean hulls , sunflower meal , and the use or not in accordance with the treatment of glycerin and urea . The introduction of glycerin and urea in the diet was fixed respectively at 10 and 1% inclusion in the diet dry matter , based on recommendations found in the literature for cattle confinados. The treatments were : C = control without glycerin and urea, U = 1 % urea in dry matter ; G10 = 10 % glycerin dry matter ; GU10 = 10 % glycerin and 1 % urea in dry matter . The diets were not different ($p > 0.05$) on performance of animals nor meat characteristics , so the use of glycerin or glycerine association with urea did not alter the growth traits of Nelore heifers finished in confinement . Thus the association of glycerol with urea may be a viable strategy in the production of cattle feedlot systems .

Keywords : biodiesel , glycerol , NNP , meat production

Introdução

A glicerina corresponde a aproximadamente 10% da massa total resultante no processo de produção do biodiesel (GONÇALVES, 2008), conseqüentemente o aumento na produção deste composto aumenta a oferta de glicerina. O mercado da glicerina é estável e novas alternativas são necessárias para sua utilização.

Para DONKIN (2008), a glicerina surge como um “novo milho” na alimentação de ruminantes, substituindo parcial ou totalmente alimentos energéticos tradicionais, podendo ser uma alternativa para redução nos custos em sistemas de produção de animais confinados, além de ser uma opção de destino ambientalmente correto a este produto. Relata ainda que a utilização de 5 a 8% de glicerina na matéria seca da dieta como artifício preventivo de distúrbios metabólicos em vacas leiteiras de alta produção. De acordo com o mesmo autor a glicerina pode ser incluída até 15% na matéria seca da dieta, sem interferir na ingestão de alimentos nem na produção animal.

Parte do nitrogênio da dieta, seja de origem não-proteica ou proteína verdadeira, é utilizado pelos micro-organismos do rúmen e transformado em proteína de boa qualidade. A capacidade das bactérias de utilizarem o nitrogênio não proteico (NNP) depende da quantidade e da taxa de degradação da energia fornecida ao animal e da capacidade de crescimento da população de microrganismos, limitado pela energia. Como a glicerina é um ingrediente exclusivamente energético, a sua inclusão em dietas deve ser compensada por uma inclusão de ingredientes proteicos e a ureia é um produto exclusivamente proteico. A glicerina é uma fonte de liberação rápida de energia, portanto sua associação com a ureia pode ter efeitos positivos no crescimento da população microbiana.

SCHORÖDER & SÜDEKUM (1999) avaliaram *in vivo* e *in vitro* a adição de 10, 15 ou 20% de glicerina na matéria seca da dieta de bovinos, em dietas com alto e

baixo amido e glicerina com diferentes purezas e concluíram que a inclusão de 10% de glicerina de média pureza na matéria seca da dieta não afetou a ingestão de água, degradação ruminal e digestibilidade dos nutrientes. A glicerina de média pureza utilizada por SCHORÖDER & SÜDEKUM (1999) possuía 11% de água, 85,3% de glicerol e 0,04% de metanol, sendo similar à glicerina do presente estudo.

Recentes trabalhos apontam para a concentração de 10% de inclusão de glicerina na matéria seca da dieta como sendo um valor interessante do ponto de vista nutricional, não alterando o desempenho e as características da carne de animais confinados, e podendo até melhorar a eficiência de ganho (PYATT et al., 2007; PARSONS et al. 2008; MACH, et al. 2009; D' AUREA, 2010; VAN CLEEF, 2012).

O nível de 1% de ureia na matéria seca da dieta de zebuínos confinados é comumente relatado mas níveis superiores podem ser utilizados, dependendo da concentração energética da dieta.

Assim, objetivou-se avaliar dietas contendo ureia e glicerina na terminação de novilhas da raça Nelore, quanto ao desempenho e características da carne.

Material e métodos

O experimento foi conduzido no confinamento do Setor de Digestibilidade pertencente ao Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias / UNESP, Câmpus de Jaboticabal. Os animais foram alojados em baias de 14 m², com piso concretado, parcialmente cobertas e providas de bebedouros e comedouros individuais.

Foram distribuídas em quatro tratamentos utilizando-se de delineamento inteiramente casualizado, 28 novilhas, da raça Nelore, com aproximadamente 20 meses de idade e peso corporal médio de $277 \pm 5,6$ kg.

As dietas com energia metabolizável e proteína bruta semelhantes foram formuladas utilizando relação volumoso:concentrado de 30:70. O volumoso utilizado

foi silagem de milho e os concentrados foram compostos por milho grão moído, casca de soja, farelo de girassol e a utilização ou não, de acordo com o tratamento, de glicerina bruta e ureia. Os tratamentos foram: C = controle sem glicerina e ureia; U= 1% de ureia na matéria seca; G10= 10% de glicerina matéria seca; GU10= 10% de glicerina e 1% de ureia na matéria seca. As dietas experimentais são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Porcentagem dos ingredientes e da composição bromatológica dos tratamentos experimentais (% MS)

Ingredientes	Tratamentos			
	C	U	G10	GU10
Silagem de milho	30	30	30	30
Milho	27	40	20	34
Casca de soja	24	24	14	14
Farelo de girassol	18	4	25	10
Glicerina bruta			10	10
Ureia		1		1
Suplemento mineral**	1	1	1	1

Nutriente	Composição estimada			
PB (%)	12,80	12,93	12,96	12,91
EM (Mcal/kg)*	2,75	2,83	2,73	2,82
FDN (%)	43,93	37,88	39,50	33,03
FDA (%)	29,20	24,56	25,72	20,75
HEM (%)	14,73	13,32	13,78	12,28
EE (%)	2,66	3,06	2,30	2,73

C= tratamento controle, G10= tratamento com 10% de glicerina na MS, U= tratamento com 1% de uréia na MS, GU= tratamento com 10% de glicerina e 1% de ureia na MS. % MS= % de matéria seca, PB= proteína bruta, EE= extrato etéreo, FDN= fibra em detergente neutro, FDA= fibra em detergente ácido, HEM= hemicelulose, EM = energia metabolizável. * Valores tabelados.** P=40g/kg; Ca = 80g/kg; Na = 195 g/kg; Cl = 300g/kg; Mg = 5g/kg; S = 26g/kg; Zn = 2g/kg; Cu = 1g/kg; Mn = 0,5g/kg; Co = 0,1g/kg; I = 0,1 g/kg; Se = 5mg/kg e F = 0,4g/kg.

A proporção volumoso:concentrado foi de 30:70 e as dietas foram formuladas para ganho de 1,2 kg/dia, de acordo com VALADARES FILHO et al. (2006).

A glicerina utilizada foi proveniente da empresa Caramuru Alimentos S/A, obtida por catálise homogênea, através do processo de transesterificação do óleo de soja com metanol, sendo metilato de sódio o catalisador utilizado na reação. Possuía as seguintes características: glicerol 84,4 %; umidade 8,8%; sais 6,08% (99% NaCl); metanol<0,01% ; MONG (material orgânico não glicerol) 0,72%. Pelas especificações apresentadas pelo fabricante esta glicerina é denominada

comercialmente de glicerina “loura”. O produto não apresenta metais pesados.

Toda glicerina utilizada no experimento pertencia ao mesmo lote de fabricação, sendo transportada e armazenada em tambores plásticos de cor escura, com capacidade para 200 litros. A glicerina foi homogeneizada diariamente antes da retirada para o fornecimento aos animais, com a finalidade de evitar possíveis separações de fase do produto.

O período total de confinamento foi de 100 dias, sendo os primeiros 28 dias destinados à adaptação dos animais ao manejo, às instalações e à dieta. Os animais foram pesados no início da adaptação, para a divisão dos mesmos dentro dos tratamentos, no início do período de avaliação, bem como ao final, sempre após jejum alimentar de 14 horas, para acompanhamento da evolução do peso e do ganho em peso diário. Foi determinado o ganho médio de peso, a conversão alimentar e o consumo de matéria seca.

Os animais foram alimentados duas vezes ao dia na mesma proporção, às 8 e às 17h. O volumoso, o concentrado e a glicerina bruta foram pesados separadamente, misturados e fornecidos no momento da alimentação. Foram permitidos até 10% de sobras, as quais eram pesadas e amostradas diariamente antes da alimentação matinal.

Ao final dos 100 dias de confinamento, os animais foram submetidos a jejum de sólidos de 14 horas, e posteriormente levados ao frigorífico para o abate. O abate seguiu os procedimentos de insensibilização por concussão cerebral, utilizando-se pistola de ar comprimido e posterior sangria. As duas meias carcaças foram pesadas quentes e resfriadas por 24 horas à temperatura de 5°C. Os rendimentos da carcaça foram determinados em relação ao peso vivo.

Após 24 horas de resfriamento, as carcaças atingiram temperatura interna média de 5,8 °C e pH 5,7 no Longuíssimo.

Foi feito um corte transversal entre a 12a e 13a costelas, de maneira a expor o músculo Longuíssimo, objetivando a realização das medidas de área de olho de lombo e da espessura de gordura de cobertura.

A espessura de gordura foi mensurada no terceiro quarto do músculo a partir da coluna vertebral, perpendicularmente ao músculo Longuíssimo, com uso de um paquímetro digital (TULLIO, 2004).

Em seguida, foi desenhada a área em papel vegetal e, através do Sistema de Análise de Imagem Delta-T Devices, foi determinada a área de olho de lombo.

Uma porção do Longuíssimo extraída da amostra foi embalada, identificada e levada para o congelador, sendo posteriormente utilizada para avaliação das características da carne no Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal da FCAV/ Unesp, Jaboticabal.

Oportunamente, os bifes foram descongelados a $3,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, identificados, pesados em balança semianalítica e colocados em grelha sobreposta automática. Foi utilizado um termômetro digital para controle da temperatura interna em cada amostra. Ao atingir a temperatura interna de 71°C , seguido de resfriamento à temperatura ambiente, as amostras foram pesadas e, por meio da diferença dos pesos inicial e final, calculou-se a perda de peso por cozimento, segundo HONIKEL (1998).

Para determinação da capacidade de retenção de água (CRA), 2 gramas da amostra foram pesados e submetidos a uma pressão de 10 Kg por 5 minutos. Após este tempo, a amostra foi novamente pesada e através da diferença de peso foi determinada a CRA, segundo HAMM (1960).

Para determinação da força de cisalhamento, as amostras foram cortadas em cilindros de 1,27 cm de diâmetro, analisadas por meio do texturômetro TA XT-Plus Texture Analyser 2i, Stable Micro System (UK) equipado com conjunto de lâmina Warner-Bratzler, o qual promoveu força necessária para cisalhar a amostra, em Kgf/cm^2 (CORTE et al., 1979).

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

Para determinação do perfil de ácidos graxos foi utilizada metodologia de extração adaptada de BLIGH & DYER (1959) e determinação por cromatografia gasosa. A extração da gordura foi realizada com uma mistura de clorofórmio-metanol. Cerca de 3g de amostra, anteriormente liofilizada, foram transferidos para um erlenmeyer com capacidade para 125 ml, onde foram adicionados 10 ml de clorofórmio, 20 ml de etanol e 8 mL de água destilada. Os frascos foram agitados por 30 minutos em mesa agitadora. Após a agitação, foram adicionados 10 ml de clorofórmio e 10 ml de sulfato de sódio a 1,5%, e os frascos agitados novamente por

2 minutos. O material foi filtrado em papel filtro quantitativo, para tubo falcon de 50 ml. Após a separação das camadas, a superior, metanólica, foi descartada. Do filtrado restante, 10 ml foram transferidos para béquer com capacidade para 50 ml, com tara prévia. O béquer foi levado para estufa de circulação forçada de ar a 55°C, para evaporação do solvente, por 24 horas, e após foi resfriado em dessecador e pesado. Pela diferença dos pesos do béquer, foi calculado o teor de lipídios da amostra. Para a transesterificação dos triglicerídios, aproximadamente 50 mg da matéria lipídica extraída foram transferidos para tubo falcon de 15 ml, onde foram adicionados 2 ml de n-heptano. A mistura foi agitada até a completa dissolução da gordura e, então, 2 ml de KOH 2 mol/l em metanol foram adicionados. Essa mistura foi agitada vigorosamente por aproximadamente 5 minutos. Após a separação das fases, 1 ml da fase superior (heptano e ésteres metílicos de ácidos graxos) foram transferidos para frascos microfrascos de 1,5 ml. Os frascos foram hermeticamente fechados, protegidos da luz e armazenados em congelador (-18°C), para posterior análise cromatográfica.

As determinações qualitativas dos ácidos graxos foram feitas por meio de cromatografia gasosa (Shimadzu, modelo GC-14B), em cromatógrafo dotado com detector de ionização de chama (FID), utilizando coluna capilar de sílica fundida de 100 m de comprimento, diâmetro de 0,25 mm e 0,25 µm de espessura do filme (Supelco Omegawax 250). O gás de arraste utilizado foi o hidrogênio, com fluxo ajustado a 1 ml/minuto. O volume de injeção foi de 1 µL, com razão “split” de 1:100. A temperatura do forno foi programada para iniciar em 100°C, permanecendo assim por 2 minutos, então levada a 220°C, à taxa de 4°C/minuto, e permanecendo nessa temperatura por 25 minutos. A temperatura do detector foi de 280°C e a do injetor de 250°C, com o fluxo dos gases de 23, 50 e 180 kPa para o ar sintético, o hidrogênio e o nitrogênio, respectivamente.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos e sete repetições.

As análises de variância foram realizadas adotando o PROC GLM. Verificada a significância do teste F ($P < 0,05$), as médias dos tratamentos foram comparadas utilizando-se o teste de Tukey.

Como ferramenta de auxílio às análises estatísticas foi utilizado o programa SAS, versão 9.1 (SAS Institute, Carry, NC, USA).

Resultados e discussão

A inclusão de glicerina bruta e ureia não promoveram alterações significativas no consumo de matéria seca, ganho em peso, conversão alimentar, rendimento de carcaça, área de olho de lombo e espessura de gordura ($p>5\%$), (Tabela 2).

Tabela 2 . Desempenho e características de carcaça de fêmeas Nelore.

Variáveis	Tratamentos				Pr>F	EPM
	C	U	G10	GU10		
CMS, kg	8,92	9,76	9,28	9,49	0,49	0,23
GP, kg	85,57	88,71	92,57	91,57	0,55	2,76
GPD, kg	1,22	1,26	1,32	1,31	0,55	0,04
EA	0,13	0,12	0,14	0,13	0,34	0,67
RC, %	56,26	56,62	57,43	57,48	0,38	1,23
AOL,cm ²	50,68	56,1	54,96	54,89	0,52	1,37
EG, mm	5,37	5,55	6,83	6,31	0,56	0,41

C= tratamento controle, U= tratamento com ureia G10= tratamento com 10% de glicerina, GU10 = tratamento com 10% de glicerina e ureia. CMS= consumo de matéria seca, GP = ganho em peso, GPD= ganho em peso diário, EA= eficiência alimentar, RC= rendimento de carcaça, AOL= área de olho de lombo, EG= espessura de gordura.

O ganho em peso dos animais foi condizente com as dietas formuladas para fêmeas da raça Nelore confinadas, em média 1,27 kg/dia, assim como o consumo de matéria seca (VALADARES FILHO et al.,2006).

Corroborando com PYATT et al., 2007; PARSONS et al. 2008; MACH, et al. 2009; D' AUREA, 2010; VAN CLEEF, 2012, FRANÇOZO et al., 2013, onde foram utilizadas dietas com 10% ou mais de inclusão de glicerina. As dietas não influenciaram o desempenho produtivo nem as características de carcaça e da carne dos animais confinados.

Segundo LUCHIARI FILHO (2000), o rendimento de carcaça quente pode

apresentar variação de acordo com o padrão racial dos animais utilizados, volume ruminal, tempo de jejum, transporte e grau de rigidez do processo de limpeza das carcaças, onde os valores para o rendimento de carcaça quente variam entre 53 e 56%. O rendimento médio encontrado foi de 56,94%, ou seja, está dentro do ótimo esperado para bovinos confinados.

A área de olho de lombo é diretamente relacionada ao índice de musculosidade do animal sendo uma característica de alta herdabilidade (BERTRAND, 2001). A expressão dessa, por sua vez, é influenciada por fatores externos, tal como a alimentação. As dietas não influenciaram na área de olho de lombo e os animais puderam expressar o seu potencial de produção.

A gordura de cobertura apresenta função de proteção da carcaça dentro da câmara frigorífica, protegendo-a das baixas temperaturas, funcionando como isolante térmico, diminuindo o encurtamento das fibras musculares causado pela queda brusca na temperatura na camada superficial do músculo, o que traz consequências negativas à maciez e textura da carne (JORGE et al., 2008). Em muitos frigoríficos o produtor é remunerado de acordo com a espessura de gordura subcutânea; o ideal varia de 3 a 6 mm. No presente experimento as novilhas apresentaram média de 6,01 mm. A espessura de gordura não foi modificada pela inclusão de glicerina bruta e ureia, portanto as dietas não interferiram no grau de acabamento dos animais.

A glicerina bruta associada à ureia ou não, não teve influência quanto à composição físico-química da carne (Tabela 3).

Tabela 3. Características físico-químicas da carne de novilhas Nelore.

	Tratamentos				Pr>F	EPM
	C	U	G10	GU10		
Umidade%	73,95	72,90	71,88	71,78	0,77	0,19
Minerais%	1,25	0,99	1,20	1,01	0,57	0,02
Gordura%	2,98	3,24	3,50	2,55	0,41	0,07
Proteína%	22,13	22,51	22,64	22,62	0,14	0,04
PPC %	46,44	46,43	46,24	42,23	0,83	1,8
CRA %	67,51	68,87	66,74	68,71	0,68	6,64
FC *	5,1	4,98	6,08	5,4	0,32	0,21
Colesterol**	26,91	29,39	29,00	25,50	0,49	0,92

C= tratamento controle, U= tratamento com ureia G10= tratamento com 10% de glicerina, GU10 = tratamento com 10% de glicerina e ureia. PPC= perdas por cocção, CRA= capacidade de retenção de água, FC= força de cisalhamento. * Kg/ cm² **mg/100g.

Os valores médios de matéria seca, matéria mineral, gordura e proteína da carne foram respectivamente 72,63; 1,11; 3,07 e 22,47, os quais apresentam-se de acordo com valores encontrados na literatura para carne de bovinos da raça Nelore (VAN CLEEF, 2012; D' AUREA, 2010).

Segundo FELÍCIO (1997), o aumento da gordura na carcaça faz com que a queda da temperatura interna durante o resfriamento seja mais lenta, favorecendo a ação de enzimas do tipo calpaínas, que deixam a carne mais macia. A idade de abate também pode interferir na maciez da carne, onde animais mais velhos possuem a carne mais dura devido ao aumento do tecido conjuntivo no músculo. Como os animais eram contemporâneos, provenientes do mesmo lote e manejo, o grau de acabamento é que poderia influenciar na maciez. Como a espessura de gordura não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$), a maciez, medida por meio de força de cisalhamento, teve o mesmo comportamento.

O valor médio de maciez foi de 5,39 Kg/cm², o que para alguns autores pode ser considerado como uma carne dura, devido a fatores relacionados com a análise (POSTE et al., 1993) e o equipamento utilizado (PINTO et al., 2010), que podem gerar diferentes valores de força de cisalhamento, fazendo com que ocorram diferenças entre a carne macia e a dura de acordo com o autor referência, que prejudica a interpretação dos dados. Assim, autores estabelecem diferentes limites entre a carne macia e a dura; PAZDIORA (2011) e MCKEITH et al. (1985), citam 4,5 kg; JOHNSON et al. (1990), 5,5 kg; SHACKELFORD et al. (1991) 4,6 kg; SHACKELFORD et al. (1997), 6,0 kg e FELÍCIO (1999), 5 kg.

Segundo LAWRIE (2004), a carne bovina possui em média o teor de colesterol de 59mg/ 100g. No presente experimento foram observados valores médios de 27,7 mg/100g de colesterol na carne, 53% abaixo da média proposta por LAWRIE (2004), e, assim, novilhas da raça Nelore terminadas com as dietas utilizadas neste experimento podem contribuir para aumentar a qualidade da carne, diminuindo o teor de colesterol, contribuindo para produção de carne mais saudável.

Gorduras insaturadas ingeridas pelos ruminantes sofrem o processo de biohidrogenação no rúmen, sendo transformadas em outros tipos de gordura. A biohidrogenação altera o tipo de gordura que chega ao intestino para ser absorvida

(KOZLOSKI, 2009). Uma forma de diminuir o efeito da biohidrogenação é aumentando a taxa de passagem como, por exemplo, aumentando a inclusão de concentrado na dieta ou diminuindo a fibra da dieta (VAN SOEST, 1994). Com a inclusão de glicerina na dieta aumenta-se o aporte energético sem incluir fibra à dieta, e pode-se aumentar a taxa de passagem; além de aumentar a produção de propionato, reduzindo o hidrogênio livre no rúmen.

A utilização de ureia ou de glicerina bruta não alterou o perfil de ácidos graxos da carne, ao nível de 5% de significância (Tabela 4).

Tabela 4. Perfil dos principais ácidos graxos da carne (%) de novilhas Nelore.

	Tratamentos				Pr>F	EPM
	C	U	G10	GU10		
mirístico	3,07	3,09	3,23	3,15	0,93	0,09
palmítico	26,83	25,68	27,30	25,97	0,11	0,23
palmitoleico	3,13	3,37	3,46	3,18	0,50	0,07
esteárico	16,03	14,14	13,92	14,97	0,14	0,31
oleico	41,61	43,06	41,90	41,63	0,55	0,37
cisvacênico	1,90	2,09	1,87	1,81	0,21	0,04
linoleico	2,99	3,68	2,57	3,08	0,36	0,19
Saturados	45,93	42,91	44,45	44,09	0,62	1,4
Insaturados	54,07	57,09	55,55	55,91	0,32	0,97
Poliinsaturados	3,98	4,78	3,48	4,12	0,14	0,34
I/S	1,18	1,33	1,25	1,27	0,47	0,03

C= tratamento controle, U= tratamento com ureia G10= tratamento com 10% de glicerina, GU10 = tratamento com 10% de glicerina e ureia. I/S= relação entre insaturados e saturados.

O consumo de gordura saturada proveniente da carne bovina é associado ao aumento nos teores de LDL sanguíneo, a qual está relacionada com o aumento de doenças cardiovasculares em humanos. Por outro lado, foi demonstrado que produtos derivados de ruminantes podem ser fonte natural de ácido linoleico que possui inúmeras funções fisiológicas interessantes para a saúde humana como, por exemplo, efeito anticarcinogênico, redução da deposição de gordura, auxílio no controle da diabetes, aumento na deposição de massa muscular e aumento na mineralização óssea.

Estudos apontam que a glicerina pode alterar a qualidade do perfil de ácidos graxos. EIRAS et al. (2014) avaliaram as características de carcaça e da carne de novilhos jovens terminados em confinamento recebendo dietas com 0, 6, 12 e 18 % de glicerina na matéria seca da dieta. A inclusão de glicerina teve efeito sobre o

perfil de ácidos graxos ($p < 0,01$), ocorreu diminuição de ácidos graxos saturados e aumento nos ácidos graxos mono e poliinsaturados. D'AUREA (2010) também encontrou alterações no perfil de ácidos graxos com 10 e 20% de inclusão de glicerina na matéria seca da dieta de novilhas Nelore, porém os ácidos graxos poli-insaturados diminuíram com a inclusão de glicerina.

No presente estudo, as concentrações totais de ácidos graxos saturados, insaturados, poliinsaturados e relação insaturados/saturados de gordura de cobertura também não houve efeito ($p > 0,05$) da inclusão de glicerina indicando que, apesar de a glicerina alterar a forma de obtenção de energia, não alterou o perfil dos ácidos graxos da carne.

De forma geral, as dietas foram eficientes à categoria animal utilizada que puderam expressar seu potencial genético, pois em todos os parâmetros avaliados apresentou-se de forma adequada e satisfatória, com ótimo desempenho e produção de carne de qualidade.

Portanto, a associação da glicerina bruta com a ureia é mais uma alternativa viável para utilização em sistemas de produção de bovinos confinados onde o custo com alimentação pode chegar a 75% dos custos totais do confinamento.

Conclusão

A inclusão de glicerina bruta associada a ureia não produz efeitos negativos sobre o consumo, desempenho e características de carcaça e carne de novilhas da raça Nelore terminadas em confinamento.

Referências

- AL-HASANI, S. M.; HLAVAC, J.; CARPENTER, M. W. Rapid determination of cholesterol in single and multicomponent prepared foods. **Journal of the Association Official Analytical Chemistry International**, Gaithersburg, v. 76, n. 4, p. 902–906, 1993.
- BERTRAND, J. K.; GREEN, R. D.; HERRING, W. O.; MOSERET, D. W.. Genetic evaluation for beef carcass traits. **Journal Animal Science**, Savoy, v. 79, p. 190-200, 2001. Supplement.
- BLIGH, E. G.; DYER, N. J. A rapid method of total lipid extration and purification. **Journal Biochemistry and Physiology**, [S.l.], v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.
- D'AUREA, A. P. **Glicerina, resíduo da produção de biodiesel, na terminação de novilhas da raça nelore**. 2010. 47 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2010.
- DONKIN, S. S. Glicerol from biodiesel production: the new corn for dairy cattle. **Brazilian Journal of Animal Science**, São Paulo, v. 37, p. 280-286, 2008. Supplement.
- EIRAS, C. E.; MARQUES, J. A.; PRADO, R. M.; VALERO, M. V.; BONAFÉ, E. G.; ZAWADZKI, D. P.; PRADO, I. N. Glycerine levels in the diets of crossbred bulls finished in feedlot: Carcass characteristics and meat quality. **Meat Science**, Amsterdam, v. 96, n., p. 930–936, 2014.
- FELÍCIO, P. E. Carne de touro jovem. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, n. 243, p. 91-92, 1997.
- FELÍCIO, P. E. Qualidade da carne bovina: características físicas e organolépticas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1999.
- FRANÇOZO, M. C.; PRADO, I. N.; CECATO, U.; VALERO, M. V.; ZAWADZKI, F.; RIBEIRO, O. L.; PRADO, R. M.; VISENTAINER, J. V. Growth performance, carcass characteristics and meat quality of finishing bulls fed crude glycerin- supplemented diets. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 56, n. 2., p. 327-336, 2013.
- HAMM, R. Biochemistry of meat hidratation. **Advances in Food Resarch**, Freising, v. 10, n. 2, p. 335-443, 1960.

HONIKEL, K. O. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. **Meat Science**, Amsterdam, v. 49, n. 4, p. 447-457, 1998.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). **Estatística de produção pecuária**. [Rio de Janeiro], 2013. p. 70.

JOHNSON, D. D.; HUFFMAN, R. D.; WILLIAMS, S. E.; HARGROVE D. D. Effect of percentage Brahman and Angus breeding age-season of feeding and slaughter end point on meat palatability and muscle characteristics. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 68, n. 7, p.1980- 1986, 1990.

JORGE, A. M.; FONTES, C. A.; PAULINO, M. F.; FERREIRA, J. N. Desempenho produtivo de animais de quarto raças zebuínas, abatidas em três estágios de maturidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 37, n. 2, p. 350-357, 2008.

KOOHMARAIE, M. Muscle proteinases and meat aging. **Meat Science**, Amsterdam, v. 36, n. 12, p. 93-104, 1994.

KOZLOSKI, V. G. **Bioquímica dos ruminantes**. 2. ed. Santa Maria: UFSM, 2009. 216 p.

LAWRIE, R. A. **Ciência da carne**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 384 p.

LUCHIARI FILHO, A. **Pecuária da carne bovina**. São Paulo: LinBife, 2000. 134 p.

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

MCKEITH, F. K.; DEVOL, D. L.; MILES, R. S.; BECHTEL, P.J.; CARR, T.R. Chemical and sensory properties of thirteen major beef muscle. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 50, n. 4, p. 869-872, 1985.

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

PARSONS, G. L.; SHELOR, M. K.; DROUILLARD, J. S. Performance and carcass traits of finishing heifers fed crude glycerin. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 87, n. 2, p. 653-657, 2009.

PAZDIORA R. D. **Pesos de abate e ureia protegida na dieta de terminação em confinamento de bovinos Nelore não castrados**. 2011. 125 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2011.

PINTO, M. F.; PANSANO, E. H. G.; ALMEIDA, A. P. S. Espessura da lâmina de cisalhamento na avaliação instrumental da textura da carne. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 6, p. 1405-1410, 2010.

POSTE, L.; Butler G.; Mackie, D.; AGAR, V.E.; THOMPSON, B.K. Correlations of sensory and instrumental meat tenderness value as affected by sampling techniques. **Food Quality and Preference**, Kidlington, v. 4, n. 4, p. 207-214, 1993.

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

RESTLE, J.; VAZ, F. N. Confinamento de bovinos definidos e cruzados. **Produção de bovinos de corte**. Porto Alegre: EDIPUCRS. p.141-168,1999.

SAS INSTITUTE. **Statistical analysis system user's guide**. Version 8.02. Cary: Statistical Analysis System Institute, 2001.

SCHRÖDER, A; SÜDEKUM, K. H. Glycerol as a by-product of biodiesel production in diets for ruminants. In: INTERNATIONAL RAPESEED CONGRESS, 10., 1999, Canberra, Austrália. 10. **Proceedings...** Australia: Regional Institute, 1999. 241 p.

SHACKELFORD, S. D.; WHEELER, T. L.; KOOHMARAIE, M. Tenderness classification of beef: I. evaluation of beef longissimus shear force at 1 or 2 days postmortem as a predictor of aged beef tenderness. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 75, n. 9, p. 2417- 2422, 1997.

SHACKELFORD, S. D.; WHEELER, T. L.; WHIPPLE, G. An evaluation of tenderness of the longissimus muscle of Angus by Herdford versus Brahman crossbred heifers. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 69, n. 1, p. 171-177, 1991.

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

VALADARES FILHO, S. C.; MAGALHÃES, K. A.; ROCHA JÚNIOR, V. R.; CAPELLE, E. R. **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. 2. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2006. 329 p.

VAN CLEEF, E. H. C. B. **Glicerina bruta em dietas para bovinos da raça nelore confinados**, 2012. 129 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2012.

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

CAPÍTULO 3 - Glicerina associada à ureia na terminação de bovinos: parâmetros ruminais, digestibilidade e massa microbiana

Resumo: O objetivo desta pesquisa foi verificar a combinação de glicerina com ureia, quanto aos parâmetros ruminais, digestibilidade e qualidade da massa microbiana. O trabalho foi conduzido na Unidade Animal de Estudos Digestivos e Metabólicos pertencente à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-FCAV/Unesp, Câmpus de Jaboticabal. Seis animais da raça Nelore providos de cânulas ruminais foram utilizados para verificar os parâmetros pH do líquido ruminal, nitrogênio amoniacal, digestibilidade da matéria seca e nutrientes e a massa microbiana, distribuídos em quadrado latino 6x6. Seis dietas com energia e proteína bruta semelhantes foram formuladas, utilizando a proporção volumoso:concentrado de 30:70. O volumoso utilizado foi silagem de milho. Os concentrados utilizados foram compostos por milho, casca de soja, farelo de girassol, glicerina e ureia. Os tratamentos foram: C= controle; U= 1% de ureia; G10= 10% de glicerina; GU10= 1% de ureia e 10% de glicerina, G20= 20% de glicerina e GU20= 20% de glicerina e 1% de ureia. Houve influência das dietas no crescimento dos microrganismos ruminais, no pH e nitrogênio amoniacal. Dietas com 20% de glicerina na matéria seca da dieta diminuem a população de protozoários ruminais. A inclusão de glicerina diminui a digestibilidade de componentes fibrosos da dieta.

Palavras-chave: biodiesel, glicerol, microorganismos, rúmen

Glycerin associated with urea in finishing cattle: ruminal fermentation , digestibility and microbial mass

Abstract: The aim of this research was to investigate the combination of glycerol with urea as the ruminal parameters , digestibility and quality of microbial mass . The work was conducted at the Animal Unit of Digestive and Metabolic Studies belonging to the Faculty of Agricultural Sciences and Veterinárias-FCAV/Unesp campus Jaboticabal . Six animals fitted with rumen cannulas Nellore were used to verify the parameters pH , ammonia nitrogen , digestibility and microbial mass distributed in a 6x6 Latin square . Six diets with similar metabolizable energy and crude protein were formulated using the forage : concentrate ratio of 30:70 . The roughage used was corn silage . The concentrates used were composed of corn, soybean hulls , sunflower meal , glycerin and urea . The treatments were : C = control , U = 1 % urea ; G10 = 10 % glycerin ; GU10 = 1 % urea and 10 % glycerol , G20 = 20 % glycerin and GU20 = 20 % glycerin and 1 % urea . Diets with glycerin had lower digestibility of NDF and hemicellulose . There was no influence of diets on the growth of rumen microorganisms , pH and ammonia nitrogen . Diets with 20 % glycerin in the diet dry matter decrease the population of rumen protozoa. The addition of glycerol decreases the digestibility of fibrous components of the diet.

Keywords : biodiesel , glycerol , microorganisms , rumen

Introdução

Com o uso de confinamento para produção de bovinos, a cada dia novos tipos de subprodutos são utilizados com a finalidade de reduzir os custos de produção e proporcionar o mesmo desempenho ao animal sem prejudicar a qualidade da carne. Desta forma a pesquisa sempre deve estar à frente, investigando o uso de novos ingredientes para a nutrição de bovinos.

A glicerina vem surgindo como uma nova fonte de energia para ruminantes, podendo substituir ingredientes que concorrem com a alimentação humana, como o milho. Grande parte da energia disponível aos ruminantes é produzida no rúmen, podendo ser avaliados parâmetros ruminais, tais como pH e nitrogênio amoniacal, digestibilidade das dietas e a massa microbiana.

O pH do rúmen afeta diretamente a ação dos micro-organismos ruminais, pois estes necessitam de uma faixa de pH ótimo para seu crescimento (VAN SOEST, 1994). Um dos efeitos negativos associados à queda do pH é a diminuição da digestibilidade das dietas, devido à diminuição da ação dos microorganismos. A saliva é o tamponante natural do rúmen, porém em dietas com elevadas quantidades de concentrado, pode não ser suficiente em virtude da diminuição na sua produção, para manter o pH estável (CHURCH, 1979, VAN SOEST, 1994).

Além das condições de pH, os microorganismos necessitam de uma fonte de nitrogênio, assim o utilizam na forma de amônia que está disponível no ambiente ruminal. A amônia ruminal é proveniente da degradação de proteínas, peptídeos, aminoácidos e de outras substâncias nitrogenadas, além da reciclagem via saliva ou difusão pela parede ruminal (VAN SOEST, 1994).

Segundo LENG (1990), em condições tropicais, as concentrações de nitrogênio amoniacal no rúmen devem ser superiores a 10 mg/dL, para que a digestão ruminal da matéria seca seja maximizada e superiores a 20 mg/dL, para que ocorra consumo de matéria seca máximo. Valores próximos a 100 mg/dL podem levar a quadros de intoxicação (SANTOS, 2006). MEHREZ et al. (1977) consideram

que a concentração de N-NH₃ de 23 mg/dL é a mais eficiente para maximizar a produção microbiana.

A inclusão da glicerina em dietas de bovinos tem causado diminuição no aproveitamento da fração fibrosa pelos animais, sendo esse mecanismo ainda desconhecido (DONKIN, 2008, D' AUREA, 2010, FAVARO, 2010, PARSONS & DROUILLARD, 2010, VAN CLEEF, 2012). Segundo ABEL- NORB et al. (2010), a glicerina pode alterar as populações de microorganismos ruminais, pelo aumento da produção de propionato.

A glicerina, por ser um ingrediente exclusivamente energético e de rápida degradação ruminal, necessita de um ingrediente proteico que possa acompanhar sua curva de degradação ruminal para um melhor aproveitamento microbiano.

O objetivo deste trabalho foi avaliar possíveis alterações ruminais provocadas pela associação de glicerina e ureia em dietas de bovinos, onde foram avaliados o pH, nitrogênio amoniacal, digestibilidade total e massa microbiana ruminal.

Material e métodos

Para as avaliações dos parâmetros ruminais foram utilizadas as instalações e os equipamentos da Unidade Animal de Estudos Digestivos e Metabólicos pertencente ao Departamento de Zootecnia da FCAV/Unesp, Câmpus de Jaboticabal.

Foram utilizados seis machos da raça Nelore, distribuídos em quadrado latino 6x6. Os animais possuíam idade aproximada de 3 anos com peso médio de 400 kg , providos de cânulas permanentes no rúmen. Os animais foram alojados em baias individuais com 16m² e livre acesso a bebedouro e cochos.

As dietas estão apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5. Porcentagem dos ingredientes e determinação da composição bromatológica dos tratamentos experimentais (% MS)

Ingredientes	Tratamentos					
	C	U	G10	GU10	G20	GU20
Silagem de milho	30	30	30	30	30	30
Milho	27	40	20	34	10	14
Casca de soja	24	24	14	14	9	19
Farelo de girassol	18	4	25	10	30	15
Glicerina			10	10	20	20
Ureia		1		1		1
Suplemento mineral**	1	1	1	1	1	1

Nutrientes	Composição					
PB (%)	12,80	12,93	12,96	12,91	12,83	12,95
EM (Mcal/kg)	2,75	2,83	2,73	2,82	2,71	2,76
FDN (%)	43,93	37,88	39,50	33,03	37,40	37,27
FDA (%)	29,20	24,56	25,72	20,75	24,33	24,86
HEM (%)	14,73	13,32	13,78	12,28	13,07	12,41
EE (%)	2,66	3,06	2,30	2,73	1,85	1,99

C= tratamento controle, G10= tratamento com 10% de glicerina na MS, U= tratamento com 1% de ureia na MS, GU= tratamento com 10% de glicerina e 1% de ureia na MS. G20= tratamento com 20% de glicerina na MS, GU20= tratamento com 20% de glicerina e 1% de ureia na MS. % MS= % de matéria seca, PB= proteína bruta, EE= extrato etéreo, FDN= fibra em detergente neutro, FDA= fibra em detergente ácido, HEM= hemicelulose, EM = energia metabolizável. * Valores tabelados. **P=40g/kg; Ca = 80g/kg; Na = 195 g/kg; Cl = 300g/kg; Mg = 5g/kg; S = 26g/kg; Zn = 2g/kg; Cu = 1g/kg; Mn = 0,5g/kg; Co = 0,1g/kg; I = 0,1 g/kg; Se = 5mg/kg e F = 0,4g/kg.

O período de adaptação dos animais às dietas experimentais foi de 14 dias e de 7 dias para colheitas de conteúdo ruminal e fezes.

O concentrado, o volumoso e a glicerina foram pesados separados e misturados no momento do fornecimento, divididos em duas refeições diárias. As rações foram fornecidas para que as sobras não ultrapassassem 5% do oferecido.

Para a determinação do nitrogênio amoniacal e do pH, foram colhidas amostras do fluído ruminal (cerca de 100 ml), via cânula ruminal, nos seguintes tempos: no momento da alimentação (0), 1, 2, 4, 6 e 8 horas após a alimentação.

O pH foi medido em potenciômetro digital de bancada, imediatamente após a colheita da amostra. Em seguida, 2 ml foram reservados em tubos de ensaio para a determinação do nitrogênio amoniacal e destilados em aparelho tipo micro-kjeldhal, utilizando-se de 5,0 ml de KOH 2N, regulado para destilar a um fluxo de 2,0 ml/min. O destilado foi recebido em 10,0 ml de solução de ácido bórico 2% até completar o

volume de 50 ml e então foi titulado com HCl 0,005 (SILVA & QUEIROZ, 2005).

O coeficiente de digestibilidade dos nutrientes foi determinado utilizando-se a fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) como indicador interno, a qual foi determinada pela técnica de incubação *in situ* dos alimentos, das sobras e das fezes durante 288 horas, segundo a técnica descrita por CASALI et al. (2008).

As amostras de sobras foram colhidas durante o período experimental. Os alimentos foram amostrados no início de cada período.

As amostras fecais (aproximadamente 100g) foram colhidas imediatamente após a defecação, 02, 06, 10, 14, 18 e 22 horas após a primeira alimentação, perfazendo um total de seis amostragens/animal/período. A amostragem foi realizada na parte superior das fezes para evitar possível contaminação com o solo. Posteriormente as amostras foram secas em estufa de circulação forçada de ar em temperatura de 55°C por 72 horas. Após a secagem, as amostras foram devidamente identificadas e armazenadas individualmente em sacos plásticos, moídas em moinho do tipo faca a 1mm e posteriormente misturadas, para formar amostras compostas de fezes e sobras.

A porcentagem de FDAi foi quantificada após 288 horas de incubação *in situ*, utilizando-se sacos de náilon, 100% poliamida, medindo 14,0 x 7,0 cm e com poros de 50 micrometros, nos quais foram pesados aproximadamente 5,5 g de matéria seca das amostras das rações, das sobras e das fezes.

Foram utilizados para incubação as amostras moídas e pré-secas de alimentos, sobras e fezes para quantificar a FDAi. Após a incubação, os sacos foram imersos em água gelada por 30 minutos para interrupção da atividade microbiana e, em seguida, foram lavados em máquina tanquinho com renovação de água. Após essa etapa, os sacos contendo os resíduos da incubação foram mantidos em estufa de circulação e renovação de ar a temperatura de 55 °C por 72 horas.

As amostras das rações e das fezes foram analisadas para a obtenção dos teores de matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta (N x 6,25) e extrato etéreo de acordo com AOAC (1995). As fibras em detergente neutro e detergente ácido foram analisadas utilizando as soluções propostas por VAN SOEST E WINE (1967) e a digestão realizada em autoclave (0,5 Kgf/cm², 111° C por 50 minutos) de acordo

com o procedimento adaptado de PELL e SCHOFIELD (1992). O amido foi determinado de acordo com HENDRIX (1993).

Os coeficientes de digestibilidade foram calculados usando as fórmulas:

Digestibilidade da matéria seca (CDMS):

$$\text{CDMS} = \{1 - [\% \text{ FDAi ingerido} / \% \text{ FDAi fezes}]\} \times 100$$

Digestibilidade do nutriente (CDN):

$$\text{CDN} = \{1 - [\% \text{ FDAi ingerido} / \% \text{ FDAi fezes}] \times [\% \text{ N fezes} / \% \text{ N ingerido}]\} \times 100$$

Foram colhidos manualmente aproximadamente 3 Kg de conteúdo ruminal para análise de massa microbiana, nos tempos 0, 2, 5 e 8 horas após a alimentação. A colheita foi dividida em dois dias de cada período experimental, sendo no primeiro as colheitas realizadas nos tempos 0 e 5 horas e no segundo dia, nos tempos 2 e 8 horas após a alimentação, para evitar a retirada de grande quantidade de conteúdo ruminal em apenas um dia, o que poderia prejudicar o crescimento microbiano.

Para separar a fase líquida da fase sólida, o conteúdo ruminal foi filtrado em filtro de náilon com porosidade de 100 µm e posteriormente avaliado de acordo com a técnica proposta por MARTIN et al. (1994). Foram pesados 200 g da parte sólida do conteúdo, sendo 30 g utilizados para a determinação da matéria seca da parte sólida e 170 g utilizados para a extração das bactérias do sólido.

Para extração das bactérias da fase sólida, o conteúdo ruminal sólido foi misturado à solução salina (0,63% K₂HPO₄, 0,5% KH₂PO₄, 0,065% NaCl.6H₂O, 0,09% MgSO₄.7H₂O, 0,5% cloridrato de cisteína), previamente aquecida a 39°C (1g de sólido:4ml de solução). Para a remoção das bactérias não aderidas ao sólido, procedeu-se à filtração dessa mistura (náilon 100µm) e o filtrado foi centrifugado (1000 x g por 10 min) Os resíduos obtidos foram adicionados ao conteúdo retido no filtro. Nestes, foi adicionada solução salina a 4°C (1g de sólido:4ml de solução) e homogeneizado (200 rpm por 5 min) em aparelho homogeneizador Stomacher 400 . O combinado sólido + solução rica em bactérias foi filtrado e o sólido foi descartado. O material não-bactéria foi descartado após centrifugação (1000 x g por 10 min a 4°C) e o sobrenadante centrifugado novamente (27000 x g por 30 min a 4°C). O

sedimento resultante dessa última centrifugação correspondeu à população de bactérias sólido-aderidas (BSA).

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

Quanto à fase líquida, os 700 ml de líquido ruminal foram diluídos com quantidade igual de solução salina, pré-aquecida a 39°C, e a mistura foi incubada em banho maria, sob a mesma temperatura, por cerca de 30 minutos. Após 25 minutos de incubação, foram adicionados 1g/l de glicose, para separar os protozoários do restante da mistura. Após essa etapa, realizou-se centrifugação (1000 x g por 10 minutos) de 400 ml do fluido clarificado, quando foi separado o pélete de protozoários líquido-associados (PLA), que foi lavado com solução salina, a 39°C, e filtrado em tecido de náilon de 20 µm.

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

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

O delineamento utilizado foi um quadrado latino 6x6, com seis animais, seis períodos e seis tratamentos. A pressuposição de normalidade dos dados foi testada através do comando *proc mixed* do programa SAS (SAS 9.1, SAS Institute Carry, NC, USA). Foram utilizados o tratamento e o tempo como efeitos fixos, e os efeitos aleatórios foram animal e período. As médias ajustadas foram comparadas utilizando-se o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Resultados e discussão

Na Tabela 6 são apresentados os valores de pH e nitrogênio amoniacal ruminal (N-NH₃). O valor de pH não foi influenciado pelas dietas ($p>0,05$). As dietas diferiram entre si ($p<0,05$) quanto ao N-NH₃. Os valores de pH e N-NH₃ diferiram em função do tempo ($p<0,05$). Não houve interação entre tempo e dieta ($p>0,05$).

Tabela 6. Efeito das dietas e do tempo sobre os valores de pH e NH₃ ruminais.

		Efeito das dietas						Pr>F	EPM
		C	U	G10	GU10	G20	GU20		
pH		6,30	6,42	6,19	6,18	6,27	6,38	0,47	0,10
N-NH ₃ , mg/dL		23,1b	28,8a	27,5a	29,9a	19,9c	25,1ab	0,01	0,47
		Efeito de tempo						Pr>F	e.p.m.
		0	1	2	4	6	8		
pH		6,67a	6,40b	6,18c	6,06cd	6,03d	6,10cd	0,001	0,04
N-NH ₃ , mg/dL		18,8cd	37,1a	35,5a	26,6b	19,9c	16,4d	0,001	0,30

As médias com diferentes letras nas linhas diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>5\%$). C= tratamento controle, U= tratamento com ureia G10= tratamento com 10% de glicerina, GU10 = tratamento com 10% de glicerina e ureia, G20= tratamento com 20% de glicerina, GU20 = tratamento com 20% de glicerina e ureia. EPM= erro padrão da média.

Segundo HOOVER (1986), ORSKOV (1988) e VAN SOEST (1994), o valor de pH mínimo, ideal para promover a fermentação da fibra é de 6,2, pois este valor não prejudica a ação dos micro-organismos celulolíticos. Os tratamentos com G10 e GU10, apresentaram valores médios de pH inferiores a 6,2 e a digestibilidade da fibra foi diminuída nestes tratamentos, conforme apresentado na Tabela 7. Porém, os tratamentos com 20% de glicerina que possuíram valores de pH acima de 6,2 também apresentaram valores de digestibilidade da fibra diminuídos. Portanto, a glicerina promoveu alguma mudança no rúmen que diminuiu a atividade de bactérias celulolíticas, independente do pH.

Na Tabela 7 são apresentados os coeficientes de digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes da dieta. Ocorreu diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos quanto à digestibilidade da fibra em detergente neutro e da

hemicelulose. Os demais nutrientes não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$).

Este mesmo comportamento ocorreu com ABUGHAZALEH et al. (2010), substituindo gradativamente o milho pelo glicerol, (0; 15; 30 e 45%) em experimento “in vitro”. Não observaram diferenças para o pH, porém, os autores relataram que a concentração de DNA do *Butyrovibrio fibrisolvens* foi significativamente reduzida com de 30 e 45% de glicerol em substituição ao milho, indicando que altos níveis de glicerol podem afetar essa bactéria, diminuindo a digestibilidade da fibra. Resultado semelhante também foi encontrado por ABO EL-NOR et al. (2010) em experimento “in vitro” com 0; 3,6; 7,2; e 10,8 % de glicerol na dieta, ao observar que não houve diferenças no pH e que a digestibilidade da FDN diminuiu linearmente à medida que aumentou o nível de glicerol nas dietas.

O N-NH₃ ruminal permite o conhecimento do balanceamento na degradação da proteína ou, o equilíbrio entre produção, absorção e utilização pelos micro-organismos.

Na Tabela 6, nota – se que a dieta G20 apresentou o menor valor de N-NH₃ ruminal, porém quando incluído 1% de uréia (GU20) o valor de N-NH₃ ruminal aumentou, o que era esperado. Altas concentrações de N-NH₃ ruminal são necessárias para maximizar a taxa de digestão de alimentos rapidamente degradáveis. . Altas concentrações de N-NH₃ ruminal podem ser resultado de excesso de proteína degradada no rúmen ou baixas concentrações de carboidratos degradados no rúmen. A concentração de N-NH₃ ruminal acima de 5 mg/dL é considerada como mínima para que ocorra uma adequada fermentação ruminal (SATTER & SLYTER, 1974). Porém, para otimizar a fermentação da fibra e a síntese microbiana, são necessários entre 15 a 29 mg/dL. As dietas diferiram quanto ao N-NH₃ ruminal, porém estão todas dentro dos padrões esperados para proporcionar condições para fermentação de fibra e síntese microbiana. Assim, para aumentar a eficiência de dietas de bovinos confinados é importante a inclusão de nitrogênio não proteico para acompanhar a degradação dos carboidratos solúveis.

A absorção da N-NH₃ ocorre por difusão passiva e a quantidade absorvida é dependente do pH (VAN SOEST, 1994). A diminuição do pH em função do tempo, está relacionado com o fornecimento do alimento que, ao ser digerido, produz ácidos

graxos de cadeia curta e diminuem o pH. O mesmo ocorre com a concentração de N-NH₃, que aumenta com a digestão do alimento nas duas primeiras horas após a alimentação e depois é absorvido gradativamente pelo epitélio ruminal, diminuindo novamente.

Tabela 7. Coeficientes de digestibilidade dos nutrientes das dietas.

	Coeficientes de digestibilidade, %						Pr>F	EPM
	C	U	G10	GU10	G20	GU20		
MS	65,1	68,9	66,2	62,6	64,5	68,4	0,34	1,23
MO	68,9	70,3	69,3	64,1	66,0	71,7	0,15	1,45
Amido	86,9	86,8	87,6	87,0	88,9	86,7	0,23	0,98
EE	81,0	82,4	82,9	83,4	83,7	81,3	0,61	1,75
PB	69,7	71,1	69,5	70,6	68,2	70,2	0,13	1,43
FDN	52,9a	49,7a	40,9b	40,3b	37,5b	42,1b	0,001	1,34
HEM	65,8a	59,4a	44,6b	40,2b	42,1b	46,6b	0,001	1,56
FDA	44,1	40,5	38,1	40,4	37,8	39,2	0,11	0,87

As médias com diferentes letras na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 5\%$) C= tratamento controle, U= tratamento com ureia G10= tratamento com 10% de glicerina, GU10 = tratamento com 10% de glicerina e ureia, G20= tratamento com 20% de glicerina, GU20 = tratamento com 20% de glicerina e ureia. MS= matéria seca, MO= matéria orgânica, EE= extrato etéreo, PB= proteína bruta, FDN= fibra em detergente neutro, HEM= hemicelulose, FDA= fibra em detergente ácido. EPM= erro padrão da média.

As dietas com glicerina prejudicaram a digestibilidade da fibra em detergente neutro e da hemicelulose, independente da ureia. A fibra em detergente neutro representa a parte da parede celular dos alimentos, constituída por hemicelulose, celulose e lignina, das quais a hemicelulose e a celulose, quando não complexadas com a lignina podem ser degradadas pelos micro-organismos ruminais (bactéria celulolíticas) para obtenção de energia (VAN SOEST, 1994).

Resultados semelhantes foram obtidos por SCHRÖDER & SÜDEKUM (1999), sugerindo que concentrações de glicerina acima de 10% na dieta podem afetar a digestibilidade dos seus nutrientes. Da mesma forma PARSONS et al. (2009) concluíram que inclusões de glicerina bruta acima de 8% na dieta de novilhas podem resultar em efeitos negativos quanto ao aproveitamento da sua fração fibrosa. D'AUREA (2010) encontrou resultados semelhantes, quando ao adicionar 0, 10 ou 20% de glicerina bruta na dieta de novilhas da raça Nelore, com diminuição na digestibilidade da fibra em detergente neutro e da hemicelulose. PARSONS &

DROUILLARD (2010), incluindo 0, 2 ou 4% de glicerina bruta em dietas de novilhas, também observaram efeito linear negativo sobre a digestibilidade da fibra em detergente neutro. VAN CLEEF (2012) identificou efeito linear decrescente com a inclusão de glicerina em dietas de bovinos (0, 7,5 15, 22,5 e 30% de glicerina) para digestibilidade da fibra em detergente neutro e da hemicelulose. A diminuição da digestibilidade da fibra também foi encontrado em experimentos “in vitro”, conduzidos por ROGER et al. (1992), onde foi observado que 0,5 e 5,0% de glicerol na matéria seca da dieta inibiram a degradação da celulose por fungos e bactérias celulolíticas.

A glicerina, associada à ureia ou não, causa redução na digestibilidade da fibra. Nota-se que ocorre algum tipo de inibição na degradação da hemicelulose, visto que as alterações ocorreram nesta e na fibra em detergente neutro, que a contém. Portanto, acredita-se que algum tipo de micro-organismo ruminal que degrada a hemicelulose é prejudicado com a inclusão de glicerina na dieta. Em experimento “in vitro”, ABO EL-NOR et al. (2010) adicionaram 3,6; 7,2 ;ou 10,8% de glicerina em dietas com 60% de feno de alfafa para vacas da raça Holandesa, observaram que quando a glicerina foi adicionada 7,2 ou 10,8%, houve diminuição ($P<0,05$) na digestibilidade “in vitro” da fibra em detergente neutro e diminuição nas populações das bactérias *B. fibrisolvens* e *S.ruminantium*.

A comparação de valores de qualidade de massa microbiana entre diferentes trabalhos é dificultosa. Existem grandes variações na composição química dos micro-organismos ruminais, as quais podem ocorrer devido à diferença entre espécies relacionadas ao perfil da dieta ou diferenças entre as técnicas utilizadas para isolar os micro-organismos e/ou, medir sua composição e a raça utilizada (EZEQUIEL, 2002).

Nas Tabelas 8 e 9 são apresentados os valores de massa microbiana que apresentaram efeito de tratamento e tempo, respectivamente ($p<0,05$). Não ocorreu interação entre tempo e tratamento com significância de 5%.

Tabela 8. Massa microbiana, efeito de tratamento.

	Tratamentos						Pr>F	EPM
	C	U	G10	GU10	G20	GU20		
mg MO BSA/ kg CR	7385,7 a	6955,6 ab	7297,1 a	7593,3 a	5837,8 b	6689,1 ab	<0,0057	275,96
mg MO BLA/ L	1307,4 bc	2010,9 a	1445,9 bc	1497,9 b	1224,5 bc	1070,2 c	<0,001	67,81
mgN BLA/ L	105,5 b	169,4 a	124,4 b	119,0 b	106,6 b	92,5 b	<0,001	6,7
mgN PLA/ L	216,3 b	269,0 a	234,9 ab	232,5 ab	110,3 c	136,6 c	<0,001	9,05
%N BS/MO	7,98 b	7,92 b	8,40 ab	7,99 b	8,91 a	8,88 a	<0,001	0,14

As médias com diferentes letras nas linhas diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>5\%$). C= tratamento controle, U= tratamento com ureia G10= tratamento com 10% de glicerina, GU10 = tratamento com 10% de glicerina e ureia, G20= tratamento com 20% de glicerina, GU20 = tratamento com 20% de glicerina e ureia. MO= matéria orgânica, BSA= bactéria sólido aderida, CR= conteúdo ruminal, BLA= bactéria líquido associada, L= líquido ruminal, N= nitrogênio, BS=bactérias do sólido. EPM= erro padrão da média.

Tabela 9. Massa microbiana, efeito de tempo.

	Tempos				Pr>F	EPM
	0	2	5	8		
mgMO BSA/ kg CR	7764,54 a	6011,82 b	6749,70 ab	7313,02 a	<0,002	337,91
mgN BSA/ kg CR	621,81 a	490,50 b	601,56 a	608,83 a	0,01	28,77
mgN PLA/ L	162,33 b	220,51 a	208,19 a	208,68 a	<0,001	11,08
%N BL/MO	7,75b	8,47 ab	8,71 a	8,67 a	0,007	0,14
%N BS/MO	8,11 b	8,15 b	8,72 a	8,41 ab	0,01	0,17

As médias com diferentes letras nas linhas diferem entre si i pelo teste de Tukey ($p>5\%$) C= tratamento controle, U= tratamento com ureia G10= tratamento com 10% de glicerina, GU10 = tratamento com 10% de glicerina e ureia, G20= tratamento com 20% de glicerina, GU20 = tratamento com 20% de glicerina e ureia. MO= matéria orgânica, BSA= bactéria sólido aderida, CR= conteúdo ruminal, PLA= protozoário líquido associada, L= líquido ruminal, N= nitrogênio, BS=bactérias do sólido, BL= bactérias do líquido. EPM= erro padrão da média.

A glicerina altera as populações de micro-organismos ruminais. O mecanismo de ação da glicerina sobre as populações de bactérias fibrolíticas ainda não está claro, podendo estar relacionado a três fatores principais: a formação de um ambiente pouco favorável à multiplicação dessas bactérias, como osmolaridade e pH, o encapsulamento das partículas fibrosas evitando a aderência das bactérias e a competição ou preferência por outro substrato, no caso a glicerina (VAN CLEEF, 2011).

A maioria das bactérias que degradam a fração fibrosa dos alimentos está aderida à parede celular, (BSA) (MICHALET-DOREAU et al., 2001). A redução das BSA, conseqüentemente, causa prejuízos à degradabilidade e digestibilidade da fibra. Neste experimento, a fração fibra teve sua digestibilidade diminuída com a inclusão de glicerina, e ocorreram alterações nas BSA tanto pelos tratamentos quanto pelos tempos estudados.

Quanto ao efeito de tratamentos, a dieta G20 apresentou o menor valor de mg de matéria orgânica de BSA/kg de conteúdo ruminal, assim como o GU20 e da U ($p>0,05$). Cabe ressaltar que a dieta G20 possuía 20% de glicerina e não tinha ureia; a falta da ureia, fonte de NNP, pode ter reduzido a quantidade de BSA por falta de nitrogênio, pois o tratamento GU20 apresentou aumento na produção de BSA. O mesmo aconteceu no tratamento U, que possuía fonte de NNP, mas a falta de energia disponível pode ter reduzido a produção das BSA. Na Tabela 9, observa-se que as BSA duas horas após a alimentação, tanto a matéria orgânica quanto o nitrogênio, apresentaram diminuição neste tempo. Segundo DONKIN (2008) a glicerina em seis horas é totalmente aproveitada no rúmen, portanto o aproveitamento da glicerina aliado à falta de NNP pode ter influenciado na diminuição das BSA e conseqüentemente na redução da digestibilidade da fibra. Observa-se na Tabela 6 que o tratamento G20 apresentou o menor valor para N-NH₃.

As dietas com 20% de inclusão de glicerina também diminuíram significativamente os protozoários do líquido, conforme apresentado na Tabela 8, redução que, em média, chegou a 51,8%. A glicerina é solúvel em líquido ruminal e inibiu de alguma forma o crescimento dos protozoários do líquido, em relação às demais dietas.

Na tabela 8 cabe ressaltar que a quantidade de nitrogênio das bactérias líquido-associadas foi maior no tratamento U. Porém, este valor pode ser decorrente da solubilização da ureia em líquido que fez com que aumentasse a quantidade de nitrogênio das bactérias líquido-associadas.

A maior parte do nitrogênio que o animal aproveita é proveniente do nitrogênio microbiano. A porcentagem de nitrogênio das bactérias do líquido e do sólido aumentou após a alimentação, indicando que as dietas favoreceram o crescimento das bactérias e, conseqüentemente, a produção de proteína microbiana.

Conclusão

A glicerina altera o ambiente ruminal e diminui a digestibilidade da fibra. A utilização da ureia em dietas com glicerina melhora as condições ruminais. A inclusão de 20% de glicerina diminui a população de protozoários.

Referências

- ABO EL-NORB, S. A.; ABUGHAZALEHA, A. A.; POTUA, R. B.; HASTINGS, D.; KHATTABB, M. S. A. Effects of differing levels of glycerol on rumen fermentation and bacteria. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 162, n. 3-4, p. 99–105, 2010.
- BALDWIN, R. L. Use of isolated ruminal epithelial cells in the study of rumen metabolism. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 128, n. 2, p. 293-296, 1998.
- CASALI, A. O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C.; PEREIRA, J. C.; HENRIQUES, L. T.; FREITAS, S. G.; PAULINO, M. F. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis

em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 37, n. 2, p. 335-342, 2008.

CECAVA, M. J.; MERCHEN N. R.; GAY C.; BERGER L. L. Composition of ruminal bacteria harvested from steers as influenced by dietary energy level, feeding frequency, and isolation techniques. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 73, n. 9, p. 2480-2888, 1990.

CHURCH, D. C. **Digestive physiology and nutrition of ruminates**. Vol. 1 – Digestive Physiology. 3. ed. Bethesda v.3, n.3, p.277-303, 1979.

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

D'AUREA, A. P. **Glicerina, resíduo da produção de biodiesel, na terminação de novilhas da raça nelore**. 2010. 47 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2010.

DeFRAIN, J. M.; HIPPEN, A. R.; KALSCHEUR, K. F.; JARDON, P. W. Feeding glycerol to transition dairy cows: effects on blood metabolites and lactational performance. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 87, n. 12, p. 4195-4206, 2004.

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

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

FÁVARO, V. R. **Utilizacao de glicerina, subproduto do Biodiesel, na alimentacao de bovinos**. 2010. 48 f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2010.

HENDRIX, D. L. Rapid extraction and analysis of nonstructural carbohydrates in plant tissues. **Crop Science**, Madison, v. 33, n. 6, p. 1306-1311, 1993.

HOOVER, W. H.; STOKES, S. R. Balancing carbohydrates and protein for optimum rumen microbial yield. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 74, n. 10, p. 3360-3371, 1991.

LENG, R. A. Factors affecting the utilization of "poor-quality" forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 3, n. 1, p. 277-303, 1990.

MARTIN, C.; WILLIAMS, A. G.; MICHALET-DOREAU, B. Isolation and characteristics of the protozoal and bacterial fractions from bovine ruminal contents. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 72, n. 11, p. 2962-2968, 1994.

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

MICHALET-DOREAU, B. et al. Fibrolytic activities and cellulolytic bacterial community structure in the solid and liquid phases of rumen contents. **Reproduction Nutrition Development**, Les Ulis, v. 41, n. 2, p. 187-194, 2001.

MOTA, C. J. A.; DA SILVA, C. X. A.; GONÇALVES, V. L. C. Alternativa potencial para aproveitamento do glicerol gerado na produção de biodiesel: síntese enzimática de monolaurina por esterificação. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 639, 2009.

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

PARSONS, G. L.; SHELOR, M. K.; DROUILLARD, J. S. Performance and carcass traits of finishing heifers fed crude glycerin. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 87, n. 2, p. 653-657, 2009.

PARSONS, G. L.; DROUILLARD, J. S. Effects of crude glycerin on ruminal metabolism and diet digestibility in flaked corn finishing diets. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 88, p. 90-92, 2010. Supplement.

PELL, A. N.; SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion in vitro. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 76, n. 4, p. 1063-1073, 1992.

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, n. 4, p. 197-201, 1992.

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

SATTER, L. D.; SLYTER, L. L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 32, n. 2, p. 199-205, 1974.

VALADARES FILHO, S. C.; MAGALHÃES, K. A.; ROCHA JÚNIOR, V. R.; CAPELLE, E. R. **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. 2. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2006. 329 p.

VAN CLEEF, E. H. C. B. **Glicerina Bruta em Dietas para Bovinos da Raça Nelore Confinados**. 2012. 129 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2012.

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

VAN SOEST, P. J.; WINE, R. H. Use of detergents in analysis of fibrous feeds. IV. Determinations of plant cell-wall constituents. **Journal of the Association Official Analytical Chemists**, Washington, v. 50, p. 50-55, 1967.

CAPÍTULO 4 - Implicações

Muitas pesquisas comprovam a viabilidade do uso da glicerina na alimentação animal, sejam aves, suínos ou ruminantes. Em muitas vezes a glicerina melhorou a eficiência alimentar, alterou o perfil de ácidos graxos na carne, influenciou na digestibilidade da fibra e em todos os trabalhos mostrou-se um ingrediente com alto potencial de ser utilizado na produção animal.

Porém, no Brasil, sua utilização como ingrediente de rações para animais está um pouco distante devido a uma série de fatores, tais como: padronização do produto, logística e preço.

A glicerina pode ser proveniente de uma série de oleaginosas, sebo e uma mistura entre eles. Quando é utilizado sebo, esta não pode ser utilizada na alimentação animal. É necessário conhecer o processo de obtenção da glicerina detalhado para saber quanto de metanol ou etanol ela tem; quanto de sais ela tem e que tipo de sais. Existem milhares de usinas de biodiesel no Brasil, onde as maiores são pequenas indústrias, até mesmo familiares que foram incentivadas pelo governo federal em produzir biodiesel, mas e o resíduo desta produção? As grandes indústrias produtoras de biodiesel vendem sua glicerina para Europa onde é purificada e utilizada em cosméticos e na indústria alimentícia. As pequenas descartam de forma indevida ou “armazenam”. Portanto, falta fiscalização para controlar a produção e padronizar a glicerina para que ela possa ser um ingrediente para alimentação animal.

Outro entrave na utilização da glicerina é a forma em que ela é apresentada, líquida, semelhante a um óleo, dificultando o transporte, armazenamento e a utilização. Onde a maioria dos ingredientes são farelados ou peletizados e a estrutura das propriedades não está preparada para um ingrediente na forma líquida.

Hoje o preço de uma tonelada de glicerina é semelhante ao preço do milho, inviabilizando sua utilização. Isso acontece, pois a glicerina em estoque nas indústrias é vendida para ser purificada.

A previsão do governo federal para 2020 é de incluir 20% de biodiesel, portanto a produção de glicerina irá triplicar. Assim, mais incentivos ocorrerão para

destinar a glicerina de forma correta, onde o uso na alimentação animal é uma alternativa interessante.

A pesquisa sempre deve estar à frente de tudo!

A glicerina associada à ureia é mais uma alternativa viável e interessante do ponto de vista nutricional para ruminantes, pois tanto a glicerina quanto a ureia possuem taxa de degradação ruminal semelhantes, criando um ambiente com nitrogênio e energia para o crescimento dos micro-organismos ruminais.