

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**ESTIMATIVA DE CONSUMO E DIGESTIBILIDADE EM NOVILHAS
LEITEIRAS, ALIMENTADAS COM DIETAS CONTENDO DIFERENTES
NÍVEIS DE INCLUSÃO DE GLICERINA BRUTA, E AVALIAÇÃO DE
INDICADORES**

CECÍLIA RIBEIRO DA MOTA E SILVA

**BELO HORIZONTE
2015**

CECÍLIA RIBEIRO DA MOTA E SILVA

**ESTIMATIVA DE CONSUMO E DIGESTIBILIDADE EM NOVILHAS
LEITEIRAS, ALIMENTADAS COM DIETAS CONTENDO DIFERENTES
NÍVEIS DE INCLUSÃO DE GLICERINA BRUTA, E AVALIAÇÃO DE
INDICADORES**

**Dissertação apresentada à Pós-Graduação
em Zootecnia da Escola de Veterinária da
Universidade Federal de Minas Gerais,
como requisito parcial para obtenção do
grau de Mestre em Zootecnia.**

Área de Concentração: Nutrição Animal

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Eloísa de O. S. Saliba

Silva, Cecília Ribeiro da Mota e, 1987-

S586e Estimativa de consumo e digestibilidade em novilhas leiteiras, alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de inclusão de glicerina bruta, e avaliação de indicadores /

Cecília Ribeiro da Mota e Silva. – 2015.

52 p. : il.

Orientadora: Eloísa de Oliveira Simões Saliba

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária.

Inclui bibliografia

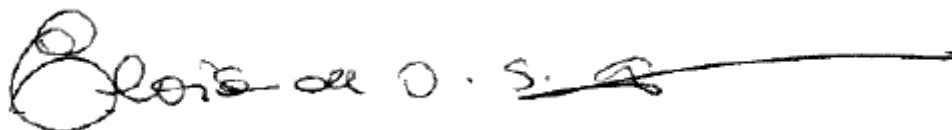
1- Novilho – Alimentação e rações – Tese. 2. Dieta em veterinária – Teses. 3. Nutrição animal – Teses. 4. Glicerina – Teses. 5. Digestibilidade – Teses. I. Saliba, Eloísa de

Oliveira

Simões. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 636.214 085

Dissertação defendida e aprovada, no dia 19 de fevereiro de 2015, pela comissão examinadora constituída por:

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Eloísa de O. S. Saliba', with a long horizontal stroke extending to the right.

Prof.^a Dr.^a Eloísa de Oliveira Simões Saliba
(Orientadora)

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Norberto Mário Rodríguez', with a long horizontal stroke extending to the right.

Prof. Dr. Norberto Mário Rodríguez

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Geraldo Sérgio Senra Carneiro Barbosa', with a long horizontal stroke extending to the right.

Prof. Dr. Geraldo Sérgio Senra Carneiro Barbosa

AGRADECIMENTOS

Agradecer a DEUS pelas graças concedidas, pela fé e por tudo!

Meu agradecimento incansável aos meus pais José Humberto e Odite pelo amor incondicional, pelo apoio nessa jornada e por tudo que ainda fazem por mim!

Quero agradecer ao meu marido e grande amor Filipe, por ser meu amigo, me apoiar em todas as decisões, ser meu companheiro, por sempre estar ao meu lado!

Aos meus irmãos Cristina, Tiago e Fernanda, aos meus cunhados Tarcísio e Fábio, a minha cunhada Mariana, pelo companheirismo e apoio de todos.

Ao meu sobrinho Heitor que é um exemplo de força, superação e que DEUS faz milagres.

A minha orientadora Prof^a. Dr^a. Eloísa de Oliveira Simões Saliba pela oportunidade, confiança, paciência e ensinamentos depositados em mim.

Ao professor Dr. Geraldo Sérgio Senra Carneiro Barbosa pelo apoio, confiança e por estar presente em todas as decisões.

Ao professor Dr. Norberto Mário Rodriguez por fazer parte desta realização.

Aos colegas Guilherme, Cristovão, Nélio, Stela, Larisse e Andressa pela grande ajuda na realização deste estudo.

A Kelly, Marcos e Toninho pelo auxílio durante o período de laboratório.

Ao CNPQ, INCT e CAPES, pelo apoio na realização dos projetos.

Enfim, a todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	7
LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE ABREVIATURAS.....	9
RESUMO	10
ABSTRACT	10
CAPITULO 1 - INTRODUÇÃO GERAL	9
1. INTRODUÇÃO.....	9
CAPITULO 2 - REVISÃO DE LITERATURA	9
1. HISTÓRICO.....	9
2. CENÁRIO DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL NO BRASIL.....	10
3. ORIGEM E OBTENÇÃO DA GLICERINA	11
4. COMPOSIÇÃO DA GLICERINA.....	13
4.1 Valor Energético da Glicerina	14
5. METABOLISMO DO GLICEROL	15
6. LIMITAÇÕES NO USO DA GLICERINA	17
6.1 Metanol.....	17
7. UTILIZAÇÃO DA GLICERINA NA ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES	18
8. INDICADORES NA AVALIAÇÃO DE CONSUMO, DIGESTIBILIDADE E PRODUÇÃO FECAL	19
8.1 Indicadores	19
8.1.1 Lignina Purificada e Enriquecida (LIPE®)	20
8.1.2 Fibras Indigestíveis dos Alimentos	21
CAPITULO 3 – ESTIMATIVA DE CONSUMO E DIGESTIBILIDADE EM NOVILHAS LEITEIRAS, ALIMENTADAS COM DIETAS CONTENDO DIFERENTES NÍVEIS DE INCLUSÃO DE GLICERINA BRUTA, E AVALIAÇÃO DE INDICADORES.....	22
2. INTRODUÇÃO.....	22
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
3.1 <i>Localização Experimental, Animais e Instalações</i>	23
3.2 <i>Dietas Experimentais</i>	23
3.3 <i>Delineamento Experimental Estatístico</i>	24
3.4 <i>Consumo Real</i>	25
3.5 <i>Digestibilidade Aparente e In Vitro</i>	26
3.6 <i>Utilizações dos Indicadores para Determinação do Consumo, Produção Fecal e Digestibilidade</i>	26

3.6.1 Fornecimento do LIPE [®]	26
3.6.2 Obtenção dos Indicadores Internos (MSi e FDNi).....	27
3.7 Análises químicas	27
3.7.1 Produção Fecal	27
3.7.2 Consumo	27
3.7.3 Digestibilidade	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1 Produção Fecal	28
4.2 Consumo	29
4.3 Digestibilidade Aparente da Matéria Seca	31
4.4 Digestibilidade Aparente da Proteína Bruta.....	31
4.5 Digestibilidade Aparente do Extrato Etéreo	33
4.6 Digestibilidade Aparente da Fibra em Detergente Neutro	34
4.7 Digestibilidade Aparente da Fibra em Detergente Ácido	36
4.8 Digestibilidade Aparente da Energia Bruta	37
4.9 Digestibilidade Aparente dos Carboidratos Não Fibrosos	39
5. CONCLUSÕES	40
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	40
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição da Glicerina Bruta	14
Tabela 2 - Composição nutricional da silagem de milho e concentrado à base de farelo de soja e milho.....	24
Tabela 3 - Análise de Variância	24
Tabela 4 - Período de fornecimento do indicador LIPE [®]	26
Tabela 5 - Produção fecal verdadeira estimada pela coleta total de fezes e a produção fecal estimada por diferentes indicadores LIPE [®] , MSi e FDNi, em kg de matéria seca	28
Tabela 6 - Consumo real (coleta total), em kg de matéria seca, e o consumo estimados pelos indicadores LIPE [®] , MSi e FDNi	29
Tabela 7 - Consumo de FDN e FDA, em %, determinados pela coleta total	30
Tabela 8 - Digestibilidade aparente da matéria seca (CDAMS) e digestibilidade estimada pelos diferentes indicadores como LIPE [®] , MSi e FDNi, em %	31
Tabela 9 - Digestibilidade aparente da proteína bruta (CDAPB) estimado pela coleta total de fezes e a digestibilidade da PB pelos indicadores LIPE [®] , MSi e FDNi em % ..	32
Tabela 10 - Digestibilidade aparente do extrato etéreo (CDAEE), em %, estimada pela coleta total de fezes e a digestibilidade do EE pelos indicadores LIPE [®] , MSi e FDNi	33
Tabela 11- Digestibilidade aparente da fibra em detergente neutro (CDAFDN) estimada pela coleta total de fezes e a digestibilidade da FDN pelos indicadores LIPE [®] , MSi e FDNi, em %	35
Tabela 12- Digestibilidade aparente da fibra em detergente ácido (CDAFDA), em %, estimada pela coleta total de fezes e a digestibilidade da FDA pelos indicadores LIPE [®] , MSi e FDNi	36
Tabela 13- Digestibilidade aparente da energia bruta (CDAEB), em %, estimada pela coleta total de fezes e a digestibilidade da EB pelos indicadores LIPE [®] , MSi e FDNi .	38
Tabela 14- Digestibilidade aparente dos carboidratos não fibrosos, em %, estimada pela coleta total de fezes e a digestibilidade do CNF pelo LIPE [®] , MSi e FDNi	39

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática da reação de transesterificação	11
Figura 2 - Diagrama da obtenção do biodiesel e da glicerina	12
Figura 3 - Via de Embden-Meyerhof-Parnas	17
Figura 4 - Metabolismo do metanol no fígado	18
Figura 5 - Gráfico de dispersão da avaliação da digestibilidade da proteína bruta pelo CDAPB e pelos indicadores LIPE [®] , MSi e FDNi	33
Figura 6 - Gráfico de dispersão da avaliação da digestibilidade do extrato etéreo pelo CDAEE e pelos indicadores LIPE [®] , MSi e FDNi	34
Figura 7 - Gráfico de dispersão da avaliação da digestibilidade da fibra em detergente neutro pelo CDAFDN e pelos indicadores LIPE [®] , MSi e FDNi.....	36
Figura 8 - Gráfico de dispersão da avaliação da digestibilidade da fibra em detergente ácido pelo CDAFDA e pelos indicadores LIPE [®] , MSi e FDNi	37
Figura 9 - Gráfico de dispersão da avaliação da digestibilidade da energia bruta pelo CDAEB e pelos indicadores LIPE [®] , MSi e FDNi.....	38
Figura 10 - Gráfico de dispersão da avaliação da digestibilidade dos carboidratos não fibrosos pelo CDACNF e pelos indicadores LIP [®] , MSi e FDNi.....	40

LISTA DE ABREVIATURAS

AGV – Ácidos graxos voláteis
A.C. – Antes de Cristo
CDMN – Consumo diário de matéria natural
CEDAF – Central de Ensino e Desenvolvimento Agrário de Florestal
CELi - Celulose potencialmente indigestível
CIA - Cinza insolúvel em ácido
CIDA – Cinza insolúvel em detergente ácido
CMS – Consumo de matéria Seca
CNF – Carboidratos não fibrosos.
Co – E.D.T.A. – Cobaloto E.D.T.A
Cr –E.D.T.A. – Cromo E.D.T.A.
CT – Carboidratos totais
CV – Coeficiente de variação
EB – Energia Bruta
EE – Extrato Etéreo
EM – Energia Metabolizável
EMAn - Energia metabolizável aparente ajustada pelo balanço de nitrogênio
FDA – Fibra em detergente ácido
FDN – Fibra em detergente neutro
FDNi – Fibra em detergente ácido
g/dia – Gramas por dia
GB – Glicerina Bruta
GPD – Ganho de peso diário
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
Kcal – Quilocalorias
Kg – Quilogramas
LABNUTRI/EV-UFGM - Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Minas Gerais
LIPE® - Lignina Purificada e Enriquecida
MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
MS – Matéria Seca
MSi – Matéria Seca Indigestível
NADH - Dinucleótido de nicotinamida e adenina reduzido
NDT – Nutrientes Digestíveis Totais
NEL – Energia Líquida de Lactação
PB – Proteína Bruta
PEG – Polietilenoglicol
PF – Produção Fecal
pH – Potencial Hidrogeniônico
Ppm – Partes por milhão
PV – Peso Vivo
UFV – Universidade Federal de Viçosa

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o consumo e a digestibilidade em novilhas mestiças alimentadas com diferentes inclusões de glicerina bruta através de indicadores internos (Matéria Seca indigestível – MSi, e Fibra em Detergente Neutro indigestível - FDNi) e externo (Lignina Purificada e Enriquecida - LIPE[®]). AS dietas eram compostas de 88% silagem de milho e 12% de fubá de milho e farelo de soja, com inclusão de 0 (controle); 2,5; 5,0; 7,5 e 10% de glicerina bruta na matéria seca, fornecida em substituição ao milho. Cinco novilhas mestiças Holandês-Zebu com peso médio 602,4 kg em confinamento foram utilizadas no experimento. As dietas eram fornecidas duas vezes ao dia e com 10% de sobras. O delineamento experimental utilizado foi o Quadrado Latino 5x5 com parcelas subdivididas. Verificou-se que a inclusão da glicerina em substituição ao fubá de milho, em até 10 % não alterou o consumo de matéria seca e a digestibilidade da dieta. Nas avaliações de consumo e das digestibilidades aparente da matéria seca (MS), da proteína bruta (PB), do extrato etéreo (EE), da fibra em detergente neutro (FDN), da fibra em detergente ácido (FDA), da energia bruta (EB) e dos carboidratos não fibrosos (CNF) comprovou-se que o LIPE[®] foi semelhante aos dados obtidos pelo método padrão (coleta total) nestas avaliações, ao contrario dos indicadores internos, MSi e FDNi, que subestimaram ou superestimaram as avaliações em comparação à coleta total. A produção fecal determinada pelo indicador LIPE[®] foi semelhante a coleta total de fezes, já os indicadores MSi e FDNi superestimaram esta avaliação.

Palavras-chave: novilhas mestiças, glicerina bruta, consumo e digestibilidade, LIPE[®], MSi, FDNi

ABSTRACT

The objective was to evaluate the intake and digestibility in heifers fed different inclusions of crude glycerin through internal indicators (Dry Matter indigestible - MSi, and indigestible neutral detergent fiber - iNDF) and external (Lignin Purified and enriched - LIPE[®]). AS diets were composed of 88% corn silage and 12% of corn meal and soybean meal, with the inclusion of 0 (control); 2.5; 5.0; 7.5 and 10% crude glycerin on dry matter, provided replacing corn. Five Holstein-Zebu crossbred heifers with average weight 602.4 kg in confinement were used in the experiment. Diets were fed twice a day and 10% of leftovers. The experimental design was a 5x5 Latin square with split plots. It was found that the inclusion of glycerin instead of corn meal, up to 10% did not affect dry matter intake and digestibility of the diet. In the evaluations of intake and apparent digestibility of dry matter (DM), crude protein (CP), ether extract (EE), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), crude energy (EB) and non-fiber carbohydrates (NFC) it was found that the LIPE[®] was similar to data obtained by the standard method (total collection) these assessments, unlike the internal indicators, MSi and iNDF, who underestimated or overestimated evaluations in compared to the total collection. Fecal production determined by LIPE[®] indicator was similar to total feces collection since the MSi and iNDF indicators overestimated this assessment.

Key words: crossbred heifers, crude glycerin, intake and digestibility, LIPE[®], MSi, NDFi

CAPITULO 1 - INTRODUÇÃO GERAL

1. INTRODUÇÃO

A população mundial tem preocupado cada vez mais com o meio ambiente, com o aquecimento global, com o desenvolvimento sustentável e com a possibilidade do fim das reservas fósseis no mundo motivando as pesquisas acerca do biodiesel.

A produção do biodiesel no Brasil vem aumentando e com isso cresceu a oferta de glicerina consideravelmente, que é obtida por reação de transesterificação catalítica dos triacilgliceróis de diferentes oleaginosas na presença de metanol ou etanol, durante a produção do biodiesel. Sendo a glicerina o principal subproduto correspondendo aproximadamente 10% do volume total produzido.

Recentemente, a glicerina é aproveitada nas indústrias de tabaco, cosméticos, alimentos e bebidas. Contudo, este mercado não absorve todo o excedente da produção de biodiesel que vem crescendo em grande escala. Assim, se faz necessário encontrar novas aplicações para a glicerina, dentre as quais se destaca seu uso na alimentação animal, como para os ruminantes (Dasari et al., 2005).

Interesses surgiram na utilização da glicerina bruta (GB) na alimentação animal devido tanto ao seu valor energético quanto à responsabilidade ambiental, pois há uma crescente produção de biodiesel, e o mercado não está conseguindo absorver toda a produção. Do ponto de vista nutricional, a glicerina tem surgido como uma fonte alternativa alimentar energética e promissora na alimentação animal, podendo substituir em parte os concentrados energéticos da ração, como o milho (Menten et al., 2008).

O desempenho animal varia de acordo com o consumo de nutrientes digestíveis e metabolizáveis, sendo que cerca de 60 a 90% das variações no desempenho são explicadas pelas alterações correspondentes ao consumo e 10 a 40% são relacionadas a variações obtidas com a digestibilidade. A determinação do consumo e da digestibilidade em animais confinados é mais fácil, ao contrário dos animais em sistema de pastagem (Berchielli et al., 2005).

Técnicas indiretas foram propostas para estimar os parâmetros de digestibilidade e excreção fecal, destacando-se entre essas técnicas o método dos indicadores, o qual proporciona vantagens sobre a coleta total de fezes, a exemplo de conveniência e simplicidade de utilização, podendo proporcionar dados adicionais, incluindo-se a quantidade ingerida de alimentos ou nutrientes específicos, a taxa de passagem da digesta por diferentes segmentos do trato gastrointestinal e a digestibilidade total ou parcial do alimento, dieta ou nutriente específico (Berchielli et al., 2000)

Este trabalho foi proposto com o objetivo de testar as diferentes inclusões de glicerina bruta na dieta de novilhas mestiças, em relação ao consumo e digestibilidade, e avaliar a produção fecal (PF) pelo método de indicadores internos, como Matéria Seca indigestível (MSi) e Fibra em Detergente Neutro indigestível (FDNi), e como indicador externo o LIPE[®].

CAPITULO 2 - REVISÃO DE LITERATURA

1. HISTÓRICO

Os fenícios divulgaram, por volta de 600 A.C., um conhecimento alquimista de como produzir sabão que, alguns séculos mais tarde, teve sua divulgação por Marselha dentro dos costumes Germânicos e Galeses. Nenhuma referência antiga pode ser

encontrada com os nomes “glicerol” ou “glicerina”, pois esses nomes datam unicamente do século XX (Zavarize, 2012).

No reinado de Carlos I, por volta do século XIV, a coroa Inglesa monopolizava o comércio, a fabricação de sabão e cobrava uma taxa da população. No século subsequente, este conhecimento foi levado da alquimia à química, um exemplo histórico está em C.G. Geoffrey (1741), que intensificou seus estudos acerca da natureza das substâncias gordurosas, desencadeando a descoberta da glicerina. Em 1779, o químico sueco Carl Wilhelm Scheele foi o primeiro a isolar esse composto, pelo aquecimento de uma mistura de litargírio (PbO) com óleo de oliva. Foi ele quem formalizou a descoberta de que os óleos e gorduras naturais contêm o que chamamos hoje de glicerina. Na época, ele a batizou de “o doce princípio das gorduras” (Kirk-Othmer, 2007; Zavarize, 2012).

2. CENÁRIO DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL NO BRASIL

Biodiesel é um combustível biodegradável proveniente de fontes renováveis, que pode ser adquirido por diferentes processos tais como o craqueamento, a esterificação ou pela transesterificação. Esta última, mais empregada, consiste numa reação química de óleos vegetais ou de gorduras animais com o álcool comum (etanol) ou o metanol, estimulada por um catalisador. Desse processo também se extrai a glicerina, utilizada para fabricação de sabonetes e vários outros cosméticos. No Brasil há dezenas de espécies vegetais, das quais se podem produzir o biodiesel, tais como mamona, dendê, girassol, amendoim, pinhão manso, milho, soja e dentre outras. Matérias-primas de origem animal, como o sebo bovino e gordura suína, também podem ser aproveitadas na fabricação do biodiesel (MME, 2015).

O Brasil tem a maior fronteira para a expansão agrícola do mundo, pois explora menos de um terço de sua área agricultável. O potencial é de cerca de 150 milhões de hectares, sendo 90 milhões referentes às novas fronteiras, e outros 60 referentes às terras de pastagens que podem ser transformadas em exploração agrícola em curto prazo. O Programa Biodiesel visa à utilização apenas de terras inadequadas para o plantio de gêneros alimentícios (Biodieselbr, 2014).

A produção e o uso do biodiesel no Brasil propiciam o desenvolvimento de uma fonte energética sustentável sob os aspectos ambiental, econômico e social e também traz a perspectiva da redução das importações de óleo diesel. Em 2008, o uso do biodiesel evitou a importação de 1,1 bilhões de litros de diesel de petróleo resultando numa economia de cerca de US\$ 976 milhões, gerando divisas para o país (Moura, 2013).

Carvalho et al. (2011) descreve a contribuição do uso do Biodiesel para a conservação do meio ambiente, por diminuir o efeito estufa por meio da menor emissão de gases. Além do mais, pela ausência de enxofre em sua composição, sua queima não provoca emissão de óxidos de enxofre (SO₂ e SO₃) considerados poluentes danosos à qualidade do ar e responsáveis pela chuva ácida.

Dados preliminares com base nas entregas dos leilões promovidos pela ANP (2014) mostram que a produção de biodiesel em novembro de 2014 foi de 315 mil m³. A produção de biodiesel durante o ano de 2014 atingiu 3.073 mil m³, um acréscimo de 13,7 % em relação ao mesmo período de 2013 (2.703 mil m³).

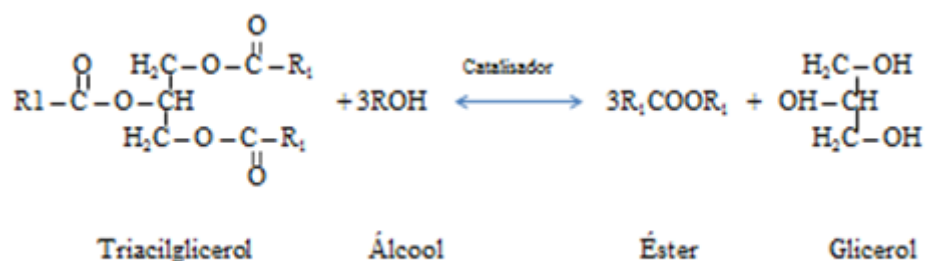
3. ORIGEM E OBTENÇÃO DA GLICERINA

A glicerina é uma substância solúvel em água, viscosa, sem odor e com sabor doce. É derivado tanto da indústria petroquímica quanto de fontes naturais, constituindo cerca de 10% dos triglicerídeos das gorduras animais e dos óleos vegetais (Zavarize, 2012). A denominação glicerol, glicerina, glicerina bruta ou glicerina purificada é bastante divergente. O nível do processamento industrial é que diferenciam as glicerinas existentes no mercado, podendo ser encontradas na forma bruta (alto conteúdo de ácidos graxos), semi-purificada (baixo conteúdo de ácidos graxos) e purificada (composto puro). Muitos trabalhos têm caracterizado o subproduto proveniente da produção de biodiesel como glicerol, e outros, como glicerina. No entanto, segundo Morrison (1994), o termo glicerol aplica-se somente ao composto puro, 1,2,3-propanotriol, enquanto o termo glicerina, aplica-se à purificação de compostos comerciais.

A glicerina é o principal subproduto originado na produção de biodiesel e, aproximadamente, 10% do volume total de biodiesel produzido correspondem à glicerina (Dasari et al., 2005).

A fabricação de biodiesel pode ocorrer por diferentes processos, sendo o mais utilizado a transesterificação alcoólica via catalítica, conforme ilustrado na Figura 1. A reação de transesterificação, com o metanol ou etanol, pode ser descrita como: 1 mol de triglicerídeo + 3 moles de metanol (ou etanol) = 3 moles de ésteres de metanol (ou etanol) + 1 mol de glicerol. Entretanto, na prática, para que a reação tenha o resultado desejado a concentração do álcool deve ser de 6 moles. Além disso, a temperatura de reação deve ser de 65°C e a pressão deve estar adequada (Krause, 2008).

Figura 1 - Representação esquemática da reação de transesterificação



Fonte: Adaptado de Morin et al. (2007).

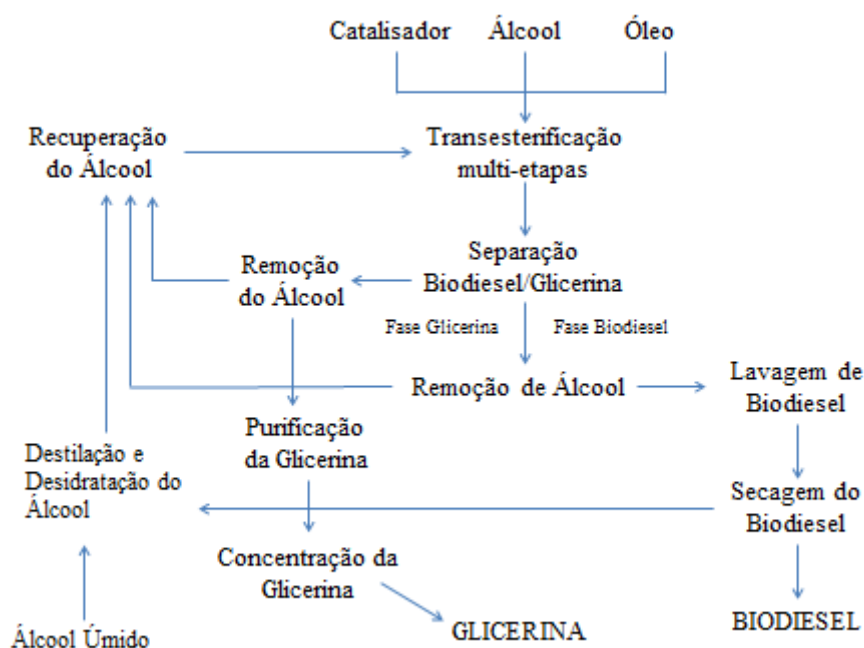
Os catalisadores mais empregados são: 1) Alcóxidos, como o metilato de sódio (NaOCH₃), proporcionando maior rendimento, menor tempo de reação e concentrações molares baixas; 2) Hidróxidos de metais alcalinos (KOH e NaOH), sendo mais acessíveis em preço e menos reativos; 3) Carbonatos de sódio ou potássio (Na₂CO₃ e K₂CO₃), que diminuem a formação de sabões (Krause, 2008).

Na reação de transesterificação são utilizados álcoois de baixa massa molecular, como etanol, metanol, butanol, propanol e/ou álcool amílico, mas etanol e metanol são os mais empregados frequentemente. Metanol é o mais usado pelo seu baixo custo na maioria dos países e às suas vantagens físicas e químicas (polaridade, álcool de cadeia mais curta, reação rápida com triacilglicerídeo e dissolução fácil com o catalisador básico). Além do mais, aceita a separação simultânea do glicerol. A mesma reação usando etanol é mais complicada, pois requer um álcool anidro, bem como um óleo com baixo teor de água para ocorrer a separação do glicerol. Contudo, o etanol está se

tornando mais popular, pois ele é renovável e muito menos tóxico que o metanol (Moura, 2013).

É imprescindível, na reação de transesterificação, como ela é reversível, o uso em excesso de álcool para deslocar o equilíbrio no sentido do produto desejado. A estequiometria para a reação é de 3:1 (álcool:lipídio). Ao final do processo ocorre a separação entre a fase dos ésteres de ácidos graxos, que constitui o biodiesel, e a fase aquosa, que consiste da glicerina bruta, contendo o excesso de álcool não reagido, assim como água e outras impurezas. Este álcool não reagido é recuperado ao final do processo e reutilizado, havendo a sobra de um resíduo de álcool na glicerina bruta (Zavarize, 2012; Moura, 2013).

Figura 2 - Diagrama da obtenção do biodiesel e da glicerina



Fonte: Adaptado de Parente (2003).

No Brasil a matéria-prima predominante na produção de biodiesel é a soja, porém a gordura animal também tem vantagem de estar disponível em grande escala. O país tem o maior rebanho bovino comercial do planeta e produz em torno de oito milhões de toneladas de carne por ano (Biodieselbr, 2014).

O sebo é um subproduto da produção da carne e em média se consegue de 15 a 17 quilos a cada animal abatido. Estimou-se que a produção nacional de gordura animal é de três milhões de toneladas por ano, uma quantidade nada desprezível. Além de servir de matéria-prima para o biodiesel, o sebo também é destinado ao ramo alimentício, à indústria cosmética (especialmente a indústria de sabões) e à produção de ração animal. A gordura animal tem a vantagem de ter um custo inferior ao do óleo vegetal, o que torna sua utilização na produção de biodiesel conveniente. Além do mais, as outras indústrias que utilizam esse material não consomem todo o volume produzido no país, o que faz com que as sobras sejam abundantes e, como consequência, baratas. Contudo, com o início da produção comercial de biodiesel no Brasil, cresceu a procura por gordura animal. A disputa entre o mercado cosmético, a indústria saboeira e de rações e as usinas de biocombustíveis fez o preço da tonelada de gordura subir. O sebo

mais caro perde seu atrativo e deixa de ser tão bom negócio para quem quer fazer biodiesel. O que impede a conquista de uma maior fatia de mercado são os cuidados extras que a gordura exige na produção. A maior dificuldade enfrentada por quem usa sebo para produzir biodiesel é que essa matéria-prima em temperatura ambiente é sólida. Para evitar problemas de entupimento na usina, o sistema precisa ser aquecido, além de resultar em um biodiesel mais suscetível à solidificação em baixas temperaturas. Não se trata de um problema sério nas regiões mais quentes do Brasil, mas é certamente um impeditivo para futuros contratos de exportação desse combustível para a Europa (Biodieselbr, 2014).

4. COMPOSIÇÃO DA GLICERINA

A glicerina bruta é definida como a glicerina separada do biodiesel, sem sofrer qualquer tipo de purificação, mostrar-se na forma de líquido pardo e escuro. (Rivaldi et al., 2007). É um composto orgânico, líquido à temperatura ambiente (25°C), higroscópico, inodoro, viscoso e de sabor adocicado. Seu ponto de fusão é de 17,8°C e ebulição com decomposição em 290°C (ANP, 2010).

A terminação glicerol aplica-se ao composto puro, ou seja, ao 1,2,3-propanotriol, enquanto o termo glicerina bruta aplica-se ao coproduto com impurezas e, portanto, com menos de 90% de glicerol. (Serrano, 2011) O glicerol ainda é o principal componente da glicerina bruta, e o mais significativo nutricionalmente, quando se aplica a glicerina bruta na alimentação de animais.

Em sua forma pura, o glicerol apresenta-se como líquido viscoso, incolor, inodoro e higroscópico, com sabor doce, solúvel em água e álcool, insolúvel em éter e em clorofórmio (Rivaldi et al., 2008). Já na forma bruta apresenta-se como líquido viscoso pardo escuro, que contém quantidades variáveis de sabão, álcool, monoacilglicerol, diacilglicerol, oligômeros de glicerol, polímeros e água (Ooi et al., 2004).

Na condição puro anidro, a glicerina tem uma gravidade específica de 1,263 kg/dl (20°C), uma viscosidade de 1,311 cP a 20°C em solução a 10%, um ponto de fusão de 17,8°C e um ponto de ebulição de 290°C, podendo passar por um processo de degradação quando em temperatura de ebulição (Henn & Zanin, 2009).

As leis norte-americanas atribuem ao glicerol o status *GRAS* (geralmente reconhecido como seguro), quando adicionado como aditivo da dieta de acordo com as boas normas de fabricação e alimentação, até mesmo na alimentação humana (Zavarize, 2012).

As propriedades nutricionais, físicas e químicas do glicerol bruto dependem do tipo de ácido graxo (gordura animal ou óleo vegetal) e do tipo de catálise empregada na produção de biodiesel (Rivaldi et al., 2007). A composição de glicerina bruta analisada pela Universidade de Iowa pode ser encontrada na Tabela 1. Vale lembrar que os componentes da glicerina bruta variam de acordo com a metodologia de fabricação do biodiesel, substâncias usadas na transesterificação e a fonte da glicerina bruta.

Tabela 1 - Composição da Glicerina Bruta

Características da Glicerina Bruta	
Glicerol Total (%)	86,95
Metanol (%)	0,028
pH	5,33
Umidade (%)	9,22
Proteína Bruta (%)	0,41
Gordura (%)	0,12
Cinzas (%)	3,19
Sódio (%)	1,26
Cloro (%)	1,86
Potássio (%)	< 0,005
Energia Bruta (kcal/kg)	3.262 ±26

Fonte: Adaptado de Lammers et al. (2007)

Thompson & He (2006), ao estudarem sobre a produção da glicerina bruta a partir de transesterificação de sete fontes de óleos vegetais, mostraram que a presença de carboidratos, gordura, proteína, cinzas e outros elementos traços são variáveis, e depende do tipo de óleo usado no processo. Esses autores definiram que o teor de gordura altera de 1 a 13% e de carboidratos 75 a 83%. Contudo, no mercado encontra-se glicerina bruta com percentual de glicerol variando de 35 a 90%.

4.1 Valor Energético da Glicerina

O amplo interesse na utilização da glicerina na alimentação animal, é devido ao seu valor energético. Na verdade, o valor energético da glicerina, resultante de cada processo industrial, deve ser verificado em função de sua pureza em glicerol, uma vez que diversas impurezas podem estar presentes no produto, como a presença de resíduos de ácidos graxos.

Ao formular dietas é importante destacar, que o valor de energia metabolizável da glicerina bruta será ajustado ao seu nível de glicerol, ou seja, deve ser considerado o teor de glicerol e a energia bruta do glicerol como sendo de 4.320 kcal/kg, conforme recomendado por Lammers et al. (2008b).

Ao definir energia metabolizável aparente ajustada pelo balanço de nitrogênio (EMAN) da glicerina (86,95% de glicerol, 280 ppm de metanol, 1,26% de sódio e energia bruta de 3.625 kcal/kg) para diferentes idades de frangos de corte, foi achado o valor médio de EMAN de 3.434 kcal/kg. Na fase inicial (4 a 11 dias de idade) e na fase final (38 a 45 dias de idade) a EMAN foi de 3.621 kcal/kg e 3.349 kcal/kg, respectivamente. Pode-se compreender, que em ambas as idades, as aves são capazes de utilizar eficientemente a glicerina com coeficiente de metabolizabilidade da energia bruta maiores de 90% (Dozier et al., 2008).

No caso da alimentação de bovinos o valor energético do glicerol, pelo fato deste não ter sido utilizado como um macro ingrediente, as estimativas de energia líquida de lactação (NEL) ainda não estão disponíveis para os cenários de alimentação típicos (Moura, 2013).

A glicerina empregada na alimentação animal pode ser encontrada nas formas bruta, semipurificada ou purificada conforme citado anteriormente. Este fato altera sua composição, principalmente em relação à concentração de glicerol, metanol e ácidos

graxos, no qual irá afetar a energia bruta, e conseqüentemente a energia metabolizável. Foram determinados os valores de EMAn da glicerina vegetal bruta e semipurificada para codornas de 4.564 e 3.068 kcal/kg na matéria natural, respectivamente (Furlan et al., 2010); e para suínos foram encontrados os valores de 5.040 e 3.777 kcal/kg ao determinar a energia digestível da glicerina vegetal bruta e semipurificada, respectivamente (Carvalho et al., 2010).

5. METABOLISMO DO GLICEROL

No metabolismo dos animais o glicerol é um componente normal, sendo encontrado na circulação e nas células. Ele é resultado da lipólise no tecido adiposo, hidrólise dos triacilgliceróis das lipoproteínas do sangue e da gordura da dieta. Porém, existe menos informação sobre as decorrências metabólicas da suplementação exógena de glicerol na dieta, especialmente quando a suplementação atinge grandes proporções como um ingrediente energético das rações. De acordo com Lin (1977), o glicerol é bem absorvido no intestino de ratos, porém menos rapidamente do que a glicose. Além disso, o glicerol também é absorvido no estômago de ratos, porém menos rapidamente do que no intestino.

Os primeiros experimentos (Johns, 1953; Garton et al., 1961) até os mais recentes (Avila et al., 2011) sobre a inclusão da glicerina bruta em dietas para ruminantes, mostram que o glicerol é quase totalmente fermentado a propionato. Isso é altamente interessante na nutrição de bovinos e foi comprovado por Bergner et al. (1995) que utilizaram glicerol marcado com C14, notaram que a maior parte do glicerol foi convertido em ácido propiônico. Outros estudos observaram aumento na concentração dos ácidos acético e propiônico (Wright, 1969), e dos ácidos propiônico e butírico (Czerkawski & Breckenridge, 1972; Krehbiel, 2008). Entretanto, como foi destacado por Rémond et al. 1993, estes experimentos foram feitos respectivamente *in vivo* e *in vitro*, com um ou dois animais de condições bem diferentes, e nos estudos *in vitro*, o líquido ruminal utilizado foi de animais que não estavam adaptados à dieta com glicerol. A aparente discordância entre algumas observações também pode ser atribuída à falta de padronização dos produtos glicerol e glicerina bruta usados na alimentação dos animais.

Estudos *in vitro* sugerem que bactérias da espécie *Selenomonas ruminantium* sejam as grandes responsáveis pela fermentação do glicerol no rúmen, com conseqüente produção de propionato, acetato, succinato e lactato (Hobson & Mann, 1961). De acordo com Silva & Leão (1979), isto também está evidente, demonstra que o glicerol pode ser metabolizado no rúmen por microorganismos, fornecendo como principal produto da fermentação o ácido propiônico.

O glicerol ao ser absorvido pode ser convertido em glicose via gliconeogênese, ou oxidado para a produção de energia, via glicólise e ciclo de Krebs (Robergs & Griffin, 1998), sendo que o metabolismo do glicerol ocorrerá no fígado e nos rins. Nos ruminantes, o glicerol pode seguir duas rotas metabólicas: absorção direta pelo epitélio da parede ruminal (Rémond et al., 1993); ou transformação em ácidos graxos voláteis (AGV) pelas bactérias ruminais (Johns, 1953), principalmente, em ácido propiônico (Bergner et al., 1995) em detrimento ao acetato. Após chegar ao fígado, pela corrente sanguínea, tanto o glicerol como o propionato serão transformados em glicose por gliconeogênese, sendo fonte de energia prontamente disponível para os animais, o que poderia ser especialmente benéfico para aqueles que estão em balanço energético negativo.

O metabolismo ruminal do glicerol fundamenta-se no transporte desse substrato através da membrana celular da microbiota ruminal, o qual acontece via difusão facilitada (em função do gradiente de concentração) de forma a saturar a enzima glicerol quinase. Conforme Garton et al. (1961) mostraram, o transporte ocorre rapidamente, tendo confirmado, em experimentação *in vitro*, o desaparecimento de 50% do glicerol após 4 h de incubação em conteúdo ruminal.

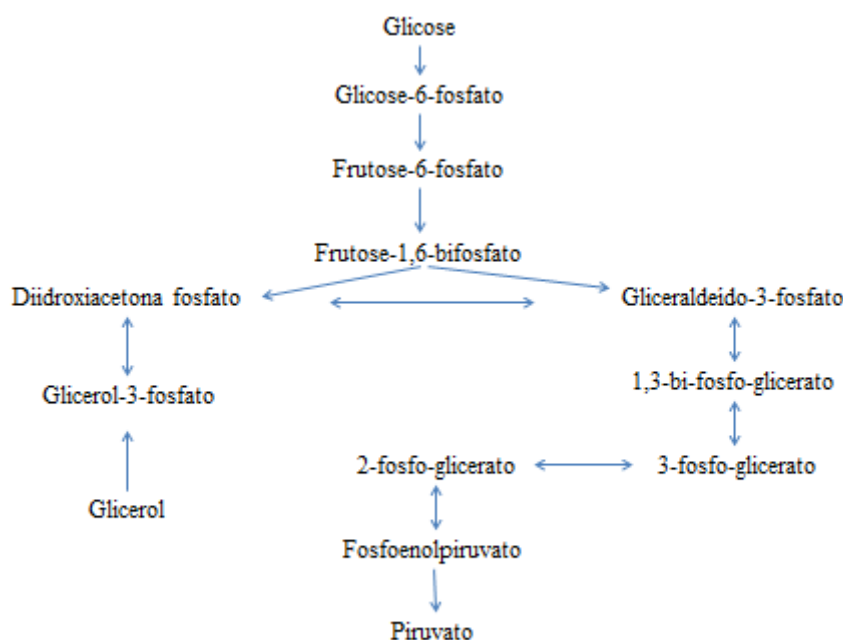
O glicerol é fosforilado pela enzima glicerol quinase resultando em uma molécula de glicerol-3-fosfato, que é oxidada em dihidroxiacetonafosfato, sendo essa reação reversível catalisada pela enzima glicerol-3-fosfato desidrogenase. A dihidroxiacetonafosfato é então convertida em gliceraldeído-3-fosfato pela enzima triose fosfato isomerase que interconverte cetoses em aldoses. Estas duas últimas moléculas participam da via glicolítica de Embden-Meyerhof-Parnas (Figura 4) frequentemente encontrada no metabolismo das hexoses em organismos superiores e microrganismos aeróbicos ou anaeróbicos (Russel & Wallace, 1997), consequentemente, sendo passíveis de participarem da gliconeogênese, glicogênese ou, ainda, produção de piruvato.

Em estudos com inclusão de glicerol, ocorre frequentemente o relato de aumento da produção total de AGVs, sendo explicado pela maior produção de propionato. Krehbiel (2008) propôs que, aproximadamente, 13% do glicerol que chega ao rúmen desaparecem por passagem com a digesta, 44% por fermentação e 43% por absorção pela parede ruminal. Garton et al. (1961) e DeFrain et al. (2004) encontraram que a metabolização ruminal do glicerol resultou em pequeno incremento na proporção molar de propionato, aumento na concentração de butirato, diferenciando dos estudos clássicos que só relataram aumento na concentração de propionato.

Na via de *Emben-Meyerhof-Parnas* o NADH excedente da entrada do glicerol pode ser aproveitado pelos microrganismos ruminais, elevando a eficiência de absorção e incorporação da amônia ruminal à proteína bacteriana. Esse processo pode justificar a diminuição de amônia livre no rúmen e nitrogênio uréico no leite notados por Wang et al. (2008) e Donkin (2008).

Conforme revelado, o glicerol pode entrar na via glicolítica e ser convertido em piruvato. Por sua vez, o piruvato pode gerar propionato por duas rotas diferentes: a do succinato ou a do acrilato (Kozloski, 2002), explicando a evidência experimental de aumento na produção de propionato em trabalhos que adicionaram glicerol à dieta de ruminantes.

Figura 3 - Via de Embden-Meyerhof-Parnas



Fonte: Adaptado de Lehninger (2002).

6. LIMITAÇÕES NO USO DA GLICERINA

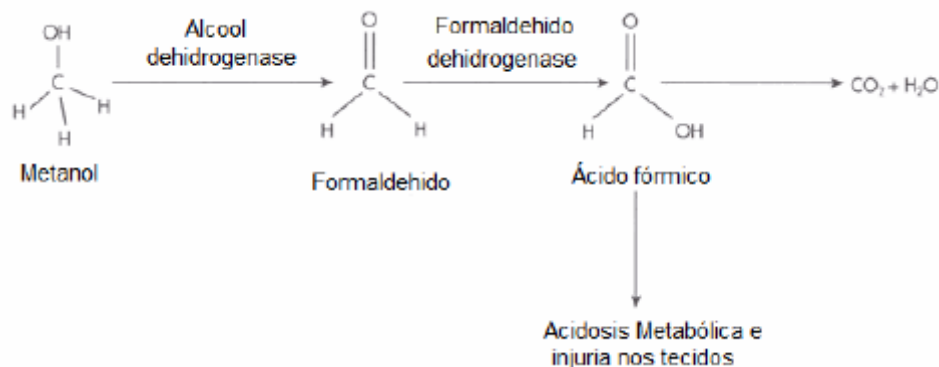
6.1 Metanol

Conforme o MAPA (2010), o padrão nacional da glicerina na alimentação animal é no máximo 150 ppm de metanol e no mínimo 80% de glicerol. Deste modo, a padronização do processo é de fundamental importância para a utilização como ingrediente na ração animal.

O metanol é utilizado em excesso na reação de transesterificação no processo de produção de biodiesel. Posteriormente a formação dos ésteres, ocorre à separação da fase lipídica da fase aquosa, que é composta por glicerina, água, metanol e os sais. Grande parte do metanol é recuperada por destilação e reciclada ao processo, porém de forma incompleta (Krause, 2008).

A intoxicação por metanol em animais é pronunciada pela excreção de ácido fórmico na urina. O metanol ingerido é oxidado no fígado, pela enzima álcool desidrogenase, a formaldeído e este a ácido fórmico, através da enzima formaldeído desidrogenase (Figura 4). Posteriormente, o ácido fórmico é metabolizado a CO_2 e H_2O , que são excretados pelo pulmão e pelos rins (Jacobsen & McMartin, 1986).

Figura 4 - Metabolismo do metanol no fígado



Fonte: Adaptado de Jacobsen & McMartin, 1986.

A oxidação do ácido fórmico depende da quantidade de coenzima tetrahydrofolato presente no fígado (Black et al., 1985). O acúmulo de ácido fórmico é responsável pela presença da acidose metabólica, atrapalha a respiração celular, produzindo acidose láctica. Ele também, ao acumular na retina, é responsável pela cegueira (Johlin et al., 1987).

7. UTILIZAÇÃO DA GLICERINA NA ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES

Existem estudos sobre o uso da glicerina na alimentação de bovinos, especialmente os leiteiros. A inclusão da glicerina nas dietas de vacas leiteiras de alta produção ocorre como meio de prevenção de cetose, já que no rúmen a glicerina se transforma em um precursor de glicose (Abdalla, 2008).

Conforme Donkin (2008), a inclusão de glicerina na dieta de vacas leiteiras previne distúrbios metabólicos ligados ao período de transição, sendo a recomendação para esta fase de 5 a 8% na matéria seca da dieta.

Em estudos com vacas em lactação a inclusão de até 10% de glicerina na matéria seca da dieta em substituição aos grãos, mostrou-se que a glicerina é um ingrediente em potencial, pois contém praticamente o mesmo teor de energia na matéria seca que o milho e essa substituição não causou impactos sobre a produção e qualidade do leite (Fávaro, 2010).

Golombski et al. (2009) avaliaram em 90 bezerras holandesas a substituição de milho maduro moído por 0, 3 e 6% de glicerina bruta no concentrado com 19% de proteína bruta. As bezerras tinham peso vivo (PV) inicial de $86,1 \pm 0,86$ kg e o experimento ocorreu por um período de 112 dias após o desmame. O consumo diário dos concentrados foi 2,72 kg e o ganho de peso diário (GPD) até 84 dias de aplicação dos tratamentos foi 1,0 kg na dieta com 6% de glicerina, e 0,96 e 0,97 kg nos tratamentos 0 e 3%, respectivamente ($P=0,05$). A eficiência alimentar (EA) mensurada pela relação entre o consumo e o ganho de peso, foi pior na dieta sem glicerina ($P<0,01$), mostrando que a substituição de milho por até 6% de glicerina foi adequada para bezerras no período pós-desmama.

Ilse & Anderson (2009) estudaram o efeito do teor de glicerina bruta (85% de glicerol) na dieta de bovinos confinados. Os autores avaliaram dietas contendo 0, 6, 12 e 18% de glicerina na matéria seca (MS) em substituição a milho laminado. Utilizaram

198 garrotes pesando 283 ± 15 kg no início do confinamento, aleatoriamente alocados em dezesseis currais, perfazendo quatro currais por tratamento. Durante os 30 primeiros dias experimentais o consumo diário de MS respondeu quadraticamente aos tratamentos ($P=0,05$), sendo 9,2; 9,6; 9,6 e 8,8 para os teores 0, 6, 12 e 18% de glicerina, respectivamente. Não foi detectado efeito de tratamento sobre o ganho de peso ($P=0,78$) e a eficiência alimentar ($P=0,92$). Em um segundo experimento, 132 novilhas Angus com $414,3 \pm 15,1$ kg receberam as mesmas dietas por 102 dias. O consumo de MS caiu linearmente nos animais recebendo os mesmos teores dietéticos de glicerina, 12,8; 12,7; 12,6 e 11,9 ($P=0,05$). Também não foi detectado efeito de tratamento sobre o ganho de peso ($P=0,26$) e a eficiência alimentar ($P=0,22$).

8. INDICADORES NA AVALIAÇÃO DE CONSUMO, DIGESTIBILIDADE E PRODUÇÃO FECAL

8.1 Indicadores

Os indicadores têm sido utilizados como ferramenta experimental por muitos anos (Merchen, 1993), e um amplo número de substâncias tem sido avaliados para ser empregados como indicadores para estudar a função digestiva dos ruminantes.

Indicadores de acordo com Owens & Hanson (1992), são compostos que servem para monitorar aspectos químicos (hidrólise e síntese) e físicos (fluxo) da digestão, sendo frequentemente utilizados para estimar fluxo de digesta e a produção fecal de ruminantes.

Portanto, indicador é o termo empregado para denominar materiais usados na estimativa qualitativa ou quantitativa de fenômenos fisiológicos ou nutricionais relacionados à digestão.

Saliba (1998) descreve que um indicador ideal deve ter algumas propriedades fundamentais, sendo que as principais são não ser tóxico, não ter função fisiológica, não ser metabolizado, ser completamente recuperável a partir do aparelho digestório e não ter influência sobre a motilidade e secreções intestinais.

De acordo com Rodriguez et al. (2006), um indicador ideal para se estimar a produção fecal pode não ser adequado para se estimar à cinética, devido a migrações de partículas, separações de fases, inibição da digestão, efeito osmótico no intestino, entre outros.

O emprego de indicadores fecais fundamenta-se no fato em que à medida que o alimento segue o fluxo do trato digestório, a concentração do indicador aumenta progressivamente pela remoção dos constituintes digestíveis dos alimentos ingeridos pelo animal, e que estas concentrações de substâncias não absorvíveis, possam ser recuperadas nas fezes. O aumento na concentração é proporcional à digestibilidade e, deste modo, esta última pode ser calculada a partir das concentrações do indicador no alimento (Silva, 2013).

A incompleta recuperação nas fezes, variações no fluxo de passagem do rúmen, amostragens pouco representativas e delineamento estatístico, são problemas primários associados a experimentos que utilizam indicadores (Merchen, 1988; Titgemeyer, 1997).

Para determinar a produção fecal, seguindo o que foi referido nos parágrafos anteriores, é necessário apenas utilizar uma relação matemática simples: a produção fecal é igual à razão entre a quantidade de indicador ingerida e a concentração do indicador nas fezes:

$$PF = \frac{\text{Dose ingerida}}{\text{Concentração fecal}}$$

Os indicadores podem ser classificados como internos, representados por substâncias indigestíveis presentes naturalmente em algum componente da dieta, e externos, quando adicionados à dieta ou fornecidos via oral (Berchielli et al., 2005).

Uma das maiores limitações quanto à utilização dos indicadores internos seria a recuperação variável nas fezes. Para os externos, é o fato de alguns poderem se agregar as frações fibrosas dos alimentos, podendo transformar suas frações químicas e físicas (Rodriguez et al., 2006).

Os indicadores internos conhecidos são: a Sílica; o Nitrogênio Fecal; o Cromogênio; a Lignina; a Fibra em Detergente Neutro (FDN) e Fibra em Detergente Ácido (FDA) indigestíveis, as Cinzas Insolúveis em Ácido (CIA) e Cinzas Insolúveis em Detergentes Ácidos (CIDA); e os N-alcanos.

Os indicadores externos mais utilizados seriam: o Óxido Crômico, os elementos Terras Raras (Lantano, Samário, Cério, Ytérbio, Disprósim), o Cromo mordante e o LIPE® os quais são utilizados para a fase sólida. E para a fase líquida são utilizados o Cobalto-E.D.T.A., Cromo-E.D.T.A. e o Polietilenoglicol (PEG) (Rodriguez et al., 2006).

Para que o emprego de indicadores seja legitimado, eles devem sempre ser comparados a um padrão, coleta total de fezes. Além do mais, cada pesquisador deve padronizar o uso do indicador para determinadas situações cientes de possíveis variações e erros em amostragens. A escolha de um indicador é determinada pelo objetivo da pesquisa em questão, levando-se em consideração os custos, facilidade de manejo e análise (Silva, 2013).

8.1.1 Lignina Purificada e Enriquecida (LIPE®)

O hidroxifenilpropano modificado e enriquecido, LIPE®, é um indicador externo de digestibilidade que foi desenvolvido especificamente para pesquisas.

Os primeiros estudos usando o LIPE® para estimativas de consumo e digestibilidade em comparativo à coleta total de fezes foi em coelhos. Outras estimativas de produção fecal e digestibilidade com outros animais revelaram a eficiência do LIPE® como indicador externo, apresentando acurácia em relação aos dados obtidos com a coleta total. Em meio às outras vantagens este indicador propiciou um curto período de adaptação, além de ser de baixo custo e ainda possui técnica de determinação nas fezes precisa, de fácil execução e pela sensibilidade e pela repetibilidade que é a espectroscopia no infravermelho segundo Saliba (2005; 2011; 2013).

Deste modo, a maioria dos estudos em que o LIPE® foi avaliado para estimativas de produção fecal, digestibilidade e consumo em diferentes espécies, mostrou-se eficaz, além de ser viável economicamente, e de fácil manuseio e determinação.

Saliba et al. (2003) em ensaio utilizando feno de Tifton 85 em dietas para ovinos, verificaram semelhança no coeficiente médio de digestibilidade de 63,23% e 64,78%, e produção fecal de 365,39 g/dia e 383,07 g/dia, para LIPE® e coleta total, respectivamente.

Em ensaio, Lima et al. (2008), testando o LIPE® e o óxido crômico nas estimativas de consumo de matéria seca em bovinos de corte, recomendaram o LIPE® como opção mais confiável para determinação indireta do consumo de matéria seca em animais sob regime de pasto.

Moraes et al. (2007), trabalhando com estimativas de produção fecal em caprinos alimentados com diferentes subprodutos agroindustriais, utilizaram o LIPE[®], concluíram que este indicador não apresentou diferenças em relação ao método de coleta total de fezes, propiciando mensurações acuradas nas estimativas da digestibilidade aparente de nutrientes.

O período de adaptação para que a excreção seja uniforme é de apenas 48 horas e o período para a colheita de fezes é três dias para aves e cinco dias para outras espécies.

8.1.2 Fibras Indigestíveis dos Alimentos

Os indicadores internos são compostos indigestíveis dos alimentos, representados geralmente por uma fração da parede celular, e não requerem preparação especial (Berchielli et al. 1998; Saliba, 1998). Os indicadores internos apresentam vantagem por já estarem presentes no alimento e, de modo geral, permanecerem distribuídos na digesta durante o processo de digestão e excreção (Piaggio et al., 1991).

Os principais indicadores internos propostos na literatura são a cinza insolúvel em ácido (CIA), a cinza insolúvel em detergente ácido (CIDA), a lignina, a cutina e os n-alcenos (Lopes, 2007). Contudo, a utilização de alguns desses indicadores foi limitada pelas baixas concentrações destes nos alimentos, como, ocorrendo um aumento no desvio-padrão, a contaminação dos alimentos, fezes e sobras com areia e os problemas impostos pelos métodos analíticos empregados.

Com a finalidade de minimizar erros de amostragem decorridos da baixa concentração de alguns indicadores internos, frações fibrosas indigestíveis do alimento, obtidas após incubações (*in vitro* ou *in situ*), foram sugeridas por Lippke et al. (1986), e vêm sendo estudadas por diversos autores (Berchielli et al., 2000; Valadares Filho, 2000; Ítavo et al., 2002; Zeoula et al., 2002; Detmann et al., 2007; Cabral et al., 2008).

A matéria seca indigestível (MSi), a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), a fibra em detergente ácido indigestível (FDAi), a lignina em detergente ácido (LDA) e a celulose potencialmente indigestível (CELi) são exemplos desses indicadores, dentre os quais, os três primeiros se sobressaem como os mais utilizados. Apesar disso, o emprego de indicadores advindos dessa metodologia não se constitui uma tarefa fácil, pois não há um método padrão para analisar as frações indigestíveis, e a recuperação fecal desses indicadores tem sido amplamente variável, o que compromete a precisão e exatidão das estimativas de digestibilidade (Penning & Johnson, 1983; Cochran et al., 1986; Lippke et al., 1986; Berchielli et al., 2000).

Ao preferir pela utilização da fibra indigestível como indicador interno, alguns fatores de variação devem ser considerados, tais como, a composição da fibra da dieta, o tamanho das partículas incubadas, o número de dias e de horários de coletas das fezes, o período de tempo e o modo de incubação (*in vitro* ou *in situ*) (Silva, 2013).

Para a obtenção da fração não digerida de determinado alimento, faz-se necessário um tempo de incubação prolongado. De acordo com Berchielli et al. (2000), há diminuição da digestibilidade dos alimentos ao se reduzir o tempo de exposição da amostra à microbiota ruminal, acarretando também a irreal reprodução da fração indigestível das amostras. Nos experimentos com indicadores internos, esse tempo, seja em incubações *in vitro* ou *in situ*, foi bastante variado, mas de acordo com INCT (2012) esse tempo deve ser de 288 horas.

Alguns autores citaram que a desuniformidade no tamanho das partículas incubadas pode ser a causa de incompletas recuperações fecais de indicadores internos (Lippke et al., 1986; Fondevila et al., 1995). Nessa situação, tanto o tamanho das partículas a serem incubadas, quanto à porosidade dos sacos de náilon são importantes.

O tipo, a porosidade e o tamanho dos sacos de filtração empregados para a incubação *in situ*, bem como a quantidade de amostra incubada é outra fonte de variação nas pesquisas com indicadores internos. Alguns autores preferem utilizar sacos de filtração padronizados e comercializados para esse fim, como é o caso daqueles associados ao sistema Ankom[®], que são recipientes compostos por fibra sintética insolúvel nos meios ácido e neutro e denominados “Filter Bags”, F57 (Alves et al., 2003; Detmann et al., 2007; Dias et al., 2007).

Avaliar todos os pontos discutidos nos parágrafos anteriores, percebe-se a desuniformidade nos procedimentos metodológicos utilizados para a obtenção dos resíduos indigestíveis, torna-se necessário a padronização das técnicas para obtenção de resultados mais confiáveis.

CAPITULO 3 – ESTIMATIVA DE CONSUMO E DIGESTIBILIDADE EM NOVILHAS LEITEIRAS, ALIMENTADAS COM DIETAS CONTENDO DIFERENTES NÍVEIS DE INCLUSÃO DE GLICERINA BRUTA, E AVALIAÇÃO DE INDICADORES

1. ABSTRACT: The objective was to evaluate the intake and digestibility in heifers fed different inclusions of crude glycerin through internal indicators (Dry Matter indigestible - MSi, and indigestible neutral detergent fiber - iNDF) and external (Lignin Purified and enriched - LIPE[®]). AS diets were composed of 88% corn silage and 12% of corn meal and soybean meal, with the inclusion of 0 (control); 2.5; 5.0; 7.5 and 10% crude glycerin on dry matter, provided replacing corn. Five Holstein-Zebu crossbred heifers with average weight 602.4 kg in confinement were used in the experiment. Diets were fed twice a day and 10% of leftovers. The experimental design was a 5x5 Latin square with split plots. It was found that the inclusion of glycerin instead of corn meal, up to 10% did not affect dry matter intake and digestibility of the diet. In the evaluations of intake and apparent digestibility of dry matter (DM), crude protein (CP), ether extract (EE), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), crude energy (EB) and non-fiber carbohydrates (NFC) it was found that the LIPE[®] was similar to data obtained by the standard method (total collection) these assessments, unlike the internal indicators, MSi and iNDF, who underestimated or overestimated evaluations in compared to the total collection. Fecal production determined by LIPE[®] indicator was similar to total feces collection since the MSi and iNDF indicators overestimated this assessment.

Key words: crossbred heifers, crude glycerin, intake and digestibility, LIPE[®], MSi, NDFi.

2. INTRODUÇÃO

Ao apresentar propriedades energéticas e sabor adocicado, a glicerina caracteriza-se como um material promissor para a alimentação animal, podendo substituir em parte os concentrados energéticos da ração, especialmente o milho. Desta forma, a potencialidade da glicerina como ingrediente dietético na alimentação animal, é de relevante interesse científico. A digestibilidade e o consumo são parâmetros importantes na formulação de dietas para ruminantes. Desta forma, se faz necessário quantificar esses parâmetros, pois, estes possuem alta ligação com a eficiência na absorção e aproveitamento dos nutrientes. Os coeficientes de digestibilidade aparente empregados

na avaliação dos alimentos, podem ser influenciados por uma série de fatores, sendo que a relação volumoso:concentrado está entre os fatores mais importantes. A determinação da produção fecal pode ser feita pela coleta total de fezes ou pela recuperação de um indicador nas fezes, porém o método de coleta total é o método referência tanto na avaliação dos alimentos, como na validação de métodos alternativos de determinação. Entretanto, a determinação pela coleta total de fezes requer rigoroso controle da ingestão e excreção, o que torna esse método tradicional trabalhoso e oneroso. Este trabalho foi proposto com o objetivo de testar as diferentes inclusões de glicerina bruta na dieta de novilhas mestiças, em relação ao consumo e digestibilidade, e avaliar a produção fecal (PF) pelo método de indicadores internos, como Matéria Seca indigestível e Fibra em Detergente Neutro indigestível, e externo o LIPE[®].

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 *Localização Experimental, Animais e Instalações*

O experimento foi conduzido durante o período de primavera (setembro a dezembro de 2011) na fazenda experimental da Central de Ensino e Desenvolvimento Agrário de Florestal (CEDAF) extensão da Universidade Federal de Viçosa (UFV), na cidade de Florestal (19° 53' 12"S 44° 25' 56"W), em Minas Gerais, a 60 km da capital, Belo Horizonte. O clima nessa região é considerado tropical com estação seca. Os dados climáticos foram fornecidos pelo IBGE. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Minas Gerais (LABNUTRI/EV-UFMG).

Foram utilizadas cinco novilhas mestiças Holandês x Gir, fistuladas no rúmen, com peso vivo médio de 602,4 kg e 37 ± 5 meses de idade. Os animais foram mantidos em regime de confinamento, alojados em baias individuais do tipo *tie stall*, piso de concreto, cobertas, equipadas com bebedouros individuais automáticos, e cochos para o fornecimento da dieta.

O experimento teve duração de 75 dias, divididos em cinco períodos de 15 dias onde os animais eram adaptados à dieta experimental durante 10 dias em cada período, e os cinco dias restantes eram realizadas coletas (fezes, sobras e alimentos oferecidos). Os animais foram pesados, identificados e vermifugados no início do experimento.

3.2 *Dietas Experimentais*

As dietas foram constituídas (com base na matéria seca) de uma proporção volumoso:concentrado 88:12 sendo o volumoso a silagem de milho e o concentrado composto de fubá de milho (40%), e farelo de soja (60%). Foram fornecidos uma pré-mistura *ad libitum* com bicarbonato de sódio (1%), fosfato bicálcico (1,72%), sal comum (1,24%) e complexo vitamínico-mineral (1,24%). As dietas foram as mesmas para todos os animais, sendo a única diferença a inclusão de glicerina bruta em diferentes níveis.

A glicerina bruta foi adicionada na dieta substituindo o fubá de milho, sendo a dieta 1 o controle (0%), dieta 2 com 2,5%, dieta 3 com 5%, dieta 4 com 7,5% e dieta 5 com 10% de inclusão.

A mistura do volumoso e concentrado era feita manualmente no momento do fornecimento, e a glicerina bruta era colocada sobre o alimento da maneira mais homogênea possível. Estes ingredientes dietéticos foram pesados e misturados duas vezes ao dia para fornecimento às 8:00 e às 16:00 horas na forma de dieta completa, sendo o

consumo medido diariamente, permitindo aproximadamente 10% de sobras. Na tabela 2 está descrita a composição nutricional dos ingredientes utilizados na dieta experimental.

Tabela 2 - Composição nutricional da silagem de milho e concentrado à base de farelo de soja e milho

Nutriente	Silagem de Milho	Concentrado
Matéria Seca (%)	28,77	88,61
Matéria Orgânica (%MS)	94,73	96,00
Proteína Bruta (%MS)	6,23	30,44
Extrato Etéreo (%MS)	2,62	3,03
Carboidratos Totais (%MS)	84,92	57,40
Fibra em Detergente Neutro (%MS)	45,76	17,53
Carboidratos Não Fibrosos (%MS)	36,07	37,55
Lignina Klason (%MS)	9,19	-

3.3 Delineamento Experimental Estatístico

O delineamento experimental estatístico empregado foi um quadrado latino com arranjo em parcelas subdivididas. Os animais e os períodos constituíram os blocos, as parcelas foram as dietas com diferentes níveis de inclusão da glicerina bruta na matéria seca (0%, 2,5%; 5%; 7,5% e 10%), e as subparcelas foram os quatro métodos de estimativa de consumo, digestibilidade e produção fecal (Coleta total, LIPE[®], MSi e FDNi), seguindo a análise de variância, tabela 3.

Tabela 3 - Análise de Variância

FONTES DE VARIAÇÃO	GRAU DE LIBERDADE
Total	24
Dietas (parcelas)	04
Novilhas (blocos)	04
Períodos	04
Erro A	12
FONTES DE VARIAÇÃO	GRAU DE LIBERDADE
Total	99
Parcelas (sub-blocos)	24
Métodos (subparcelas)	03
Dietas x Métodos	19
Erro B	53

Os dados referentes ao consumo dos nutrientes, digestibilidade dos nutrientes e da dieta total foram analisadas pelo SAS (SAS, 2001), tendo como fontes de variação:

QL, animal dentro do QL, período e tratamento (níveis de glicerina bruta). A comparação de médias foi feita utilizando-se o LSMEANS do SAS (2001), por meio do teste de Tukey ($P < 0.05$). Foi adotado o seguinte modelo para análise de consumo, digestibilidade dos nutrientes e da dieta total:

$$Y_{ijk} = \mu + d_i + a_j + p_k + e_{ijk} + t_l + dt_{il} + \alpha_{ijkl}$$

Em que: Y_{ijk} = valor observado relativo ao nível de inclusão da glicerina bruta i , ao animal j , ao período k e ao tempo l ; μ = média geral; d_i = efeito da dieta i , sendo $i = 1, 2, 3, 4, 5$; a_j = efeito do animal j , sendo $j = 1, 2, 3, 4, 5$; p_k = efeito do período k , sendo $k = 1, 2, 3, 4, 5$; e_{ijk} = erro atribuído às parcelas; t_l = efeito do tempo l ; dt_{il} = efeito da interação do i -ésimo nível da dieta i , com o l -ésimo nível do tempo l ; α_{ijkl} = erro aleatório atribuído às sub-parcelas.

O efeito da suplementação da silagem de milho com as porcentagens de inclusão de glicerol sobre consumo de nutrientes, digestibilidade dos nutrientes e da dieta total foram também estudados por meio de regressões lineares e quadráticas, utilizando-se procedimento PROC REG do SAS (2001).

O modelo para análise de variância incluiu como fontes de variação vaca, período, tratamento x tempo, além de resíduos. Os testes adotados para a comparação das médias foram selecionados conforme o coeficiente de variação (CV) com nível de significância ($P < 0.05$). O modelo matemático utilizado para análise do consumo de nutrientes foi o seguinte:

$$Y_{ijk} = \mu + D_i + I_j + D_{ij} + E_{ijk}$$

Em que: Y_{ijk} = valor observado para o nível de inclusão da glicerina bruta i , por meio do indicador j , ao período k ; μ = média geral; D_i = efeito da dieta i , sendo $i = 1, 2, 3, 4, 5$; D_{ij} = efeito da interação dieta e indicador; E_{ijk} = erro atribuído às parcelas.

Os dados de produção fecal e digestibilidade foram submetidos às análises de variância e regressão, em função da inclusão de glicerina bruta na dieta (0; 2,5; 5; 7,5; 10%) e em função do método de estimativa (LIPE[®], MSi, FDNi, Coleta total), utilizando-se o programa Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas (SAEG 8.0). Os modelos foram selecionados utilizando como critério a significância.

3.4 Consumo Real

A dieta fornecida bem como as sobras de cada animal foi registrada diariamente antes da alimentação matinal. Uma amostra composta foi formada por novilha, em cada período, com base na matéria seca, das coletas diárias dos alimentos e sobras. O consumo diário de matéria seca (CMS) foi calculado multiplicando-se o consumo diário de matéria natural (CDMN) de cada alimento, entre 10^o e 15^o dia de cada período, por seu respectivo teor de matéria seca total (MST), seguida de subtração da sobra de matéria seca, conforme a fórmula descrita abaixo:

$$CMS = (CDMN \times \% MST) - MS \text{ (sobras)}$$

A ingestão diária de nutrientes por animal foi calculada multiplicando o oferecido de matéria seca de cada ingrediente por seu respectivo teor nutritivo. Do total de nutrientes oferecidos, foi subtraída a sobra diária do mesmo nutriente de cada animal.

Durante o período de coleta, amostras dos volumosos, concentrados e das sobras de cada animal foram coletadas diariamente, acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em freezer a -20°C. Ao final do período foram feitas amostras compostas “pool”, de cada animal, com base na matéria seca.

3.5 Digestibilidade Aparente e In Vitro

A digestibilidade aparente dos alimentos foi determinada por meio da coleta total de fezes, controle dos alimentos oferecidos e das sobras dos animais num período de cinco dias consecutivos, compreendidos entre o 10° e 15° dia de cada período. A cada 24 horas, a produção fecal obtida pela defecação espontânea de cada animal, foi pesada, homogeneizada e foram retiradas amostras de aproximadamente 200g de fezes. Durante o período de coleta total, as fezes foram continuamente congeladas e uma amostra composta foi formada por novilha com base na matéria seca, por período. A produção fecal média foi obtida pela média dos cinco dias de coleta.

Além da digestibilidade aparente, foram realizadas a digestibilidade *in vitro* da matéria seca das diferentes dietas. As amostras das dietas ofertadas foram coletadas diariamente e individualmente (por animal), e ao final de cada período, foram realizadas amostras compostas. A digestibilidade *in vitro* da matéria seca foi realizada segundo Tilley e Terry (1963).

3.6 Utilizações dos Indicadores para Determinação do Consumo, Produção Fecal e Digestibilidade

Para mensuração do consumo, produção fecal e digestibilidade foram utilizados os indicadores LIPE[®], a matéria seca indigestível (MSi) e a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), sendo esses dois últimos indicadores internos e o LIPE[®] indicador externo.

3.6.1 Fornecimento do LIPE[®]

O indicador externo LIPE[®] foi fornecido na forma de cápsula, na dose de 0,5g por novilha diariamente, por meio da cânula ruminal, com dois dias para adaptação acrescido do fornecimento durante todo o período de coleta (cinco dias), no total foram fornecido sete cápsulas/animal/período. Ao final do 15° dia, dava-se início a um novo período, com novos tratamentos, porém o período de adaptação dos indicadores era mantido. A tabela 4 demonstra o período de fornecimento do indicador durante a etapa experimental.

Tabela 4 - Período de fornecimento do indicador LIPE[®]

Fornecimento do indicador externo - LIPE [®]															
Dias	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
LIPE [®]									f	f	fc	fc	fc	fc	fc

*Os quadros marcados com a letra “f” correspondem ao período de fornecimento dos indicadores, e os quadros marcados com letras “fc” correspondem ao fornecimento do indicador e período de coleta.

3.6.2 Obtenção dos Indicadores Internos (MSi e FDNi)

Amostras do volumoso, concentrado, sobras e fezes foram incubadas no rúmen de um animal durante 288 horas conforme sugerido pelo INCT (2012), para a obtenção das frações indigestíveis dos alimentos MSi e FDNi, *in situ*.

Para realização da incubação ruminal (*in situ*), foram utilizados sacos de tecido não tecido (TNT), de densidade 100 g/cm². As amostras dos alimentos oferecidos, sobras e fezes foram moídas em moinho tipo Willey com peneira de 1 mm, e acondicionadas nos sacos de filtragem TNT, em uma quantidade de 20 a 25 mg de matéria seca por cm² de superfície, aproximadamente 1 g de amostra, respeitando os dois lados dos recipientes. Após 288 horas de incubação *in situ*, os recipientes de filtragem foram retirados do rúmen e lavados com água corrente. Em seguida foram levados a estufa, e após secos, foram pesados e o resíduo foi utilizado para a determinação da MSi. A FDNi foi determinada de maneira sequencial a obtenção da MSi, onde os recipientes foram lavados com solução de detergente neutro, depois secos em estufa, e por último foram pesados, sendo seu resíduo utilizado para determinar a fração indigestível da FDN.

3.7 Análises químicas

As amostras de alimentos, sobras, fezes foram pré-secas a 55°C, posteriormente moídas em moinho tipo Willey com peneira de 1 mm e armazenadas em recipientes plásticos para realização das análises químicas. As análises dos teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE) foram realizados conforme recomendações do INCT (2012). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinados segundo as técnicas descritas por Silva & Queiroz (2002), Van Soest & Robertson (1985).

As porcentagens de carboidratos não fibrosos (CNF) e totais (CT) foram obtidas pelas equações propostas por Sniffen et al. (1992): CNF = 100 - (%FDN + %PB + %EE + %Cinzas) e CT = 100 - (%PB + %EE + %Cinzas).

A análise do indicador LIPE[®] foi realizada por Espectroscopia no Infravermelho, em equipamento Varian-800 com transformada de Fourier (FT-IV) (Saliba, 2005; Saliba, 2013).

3.7.1 Produção Fecal

Para a obtenção da produção fecal (PF) a partir do indicador externo foi utilizada a seguinte fórmula:

$$PF = \frac{\text{LIPE}^{\text{®}} \text{ fornecido (g)}}{(\text{LIPE}^{\text{®}} \text{ nas fezes} \times \text{MS fecal})}$$

3.7.2 Consumo

Para obtenção do consumo a partir do indicador externo LIPE[®] foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\text{Consumo} = \frac{PF}{(1 - \text{Digestibilidade}/100)}$$

Para obtenção do consumo a partir dos indicadores internos foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\text{Consumo de Matéria Seca (g)} = \frac{\text{Excreção do indicador interno nas Fezes (g)}}{\% \text{ Indicador Interno no Alimento Ingerido}}$$

3.7.3 Digestibilidade

Para obtenção da digestibilidade a partir dos indicadores internos foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\text{Digestibilidade} = 100 - 100 \times \left(\frac{\% \text{ Indicador no alimento}}{\% \text{ Indicador nas fezes}} \right)$$

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Produção Fecal

A produção fecal verdadeira determinada pela coleta total de fezes e a estimada pelos indicadores LIPE[®], MSi e FDNi, em kg de matéria seca, são apresentadas na tabela 5.

Tabela 5 - Produção fecal verdadeira estimada pela coleta total de fezes e a produção fecal estimada por diferentes indicadores LIPE[®], MSi e FDNi, em kg de matéria seca

Métodos	0%	2,5%	5%	7,5%	10%	Médias
Coleta total	3,31	3,30	3,07	3,29	3,50	3,29 B
LIPE [®]	3,46	3,29	3,27	3,40	3,37	3,35 B
MSi	3,72	3,55	3,76	3,71	3,87	3,72 A
FDNi	3,65	3,56	4,03	3,86	4,79	3,98 A
Médias	3,54 ab	3,43 b	3,53 ab	3,57 ab	3,88 a	

0%; 2,5%; 5%; 7,5% e 10% = Níveis de inclusão de glicerina bruta na MS da dieta. Médias seguidas de letras distintas maiúsculas na coluna e minúsculas na linha representam diferenças pelo teste SNK (P<0,05). CV (%) = 12,63

Os dados apresentados na tabela 5 mostram que não houve interação entre dieta e indicadores, o que permite a avaliação dos dados de produção fecal pelas médias marginais entre os diferentes níveis de inclusão da glicerina e as médias calculadas pelos diferentes indicadores comparados a coleta total de fezes.

Expressos em quilogramas de matéria seca, a produção fecal obtida entre os diferentes níveis de glicerina bruta na dieta, apresentaram um comportamento idêntico na maioria dos resultados, sendo as inclusões de 0; 5; 7,5 e 10% semelhantes, representando valores de 3,54; 3,53; 3,57 e 3,88 kg, respectivamente. Apesar da produção fecal menor encontrada na inclusão de 2,5% de glicerina na dieta, o valor de 3,43 kg, apenas é diferente estatisticamente quando comparado ao maior nível de inclusão, 10%.

Já quando analisamos a produção fecal pelos diferentes indicadores, comparando-os com a coleta total de fezes, percebe-se que apenas o LIPE[®] foi semelhante à produção fecal real, com valores de 3,35 e 3,29 kg, respectivamente. Fato explicado pela dispersão e homogeneização do LIPE[®] na digesta ruminal de maneira uniforme, comprovados em diversos trabalhos.

Silva et al. (2008), Merlo et al. (2008) e Silva et al. (2008b), trabalhando com ovinos, não observaram diferença entre os dados encontrados pelo método de coleta total de fezes e o LIPE[®] na determinação da digestibilidade em dietas com níveis crescentes de castanha de caju, farelo de coco e torta de babaçu, respectivamente.

As fibras indigestíveis MSi e FDNi, superestimaram a produção fecal quando comparadas a coleta total de fezes, mesmo os animais alimentados com uma única fonte de fibra, a fração indigestível da mesma não demonstrou a mesma acurácia nos resultados, sendo semelhantes entre elas, MSi 3,72 kg e FDNi 3,98 kg, porém diferentes quando comparadas com a coleta total.

Berchielli et al. (2005) relataram que, em função do alimento estudado, diferentes tempos de incubação podem ser exigidos para recuperação dos resíduos indigestíveis, haja vista que a constituição da fibra afeta a taxa e a extensão da degradação do alimento.

A porosidade do recipiente de filtragem de 100 g/cm², correlacionada ao tamanho de partículas 2 mm, utilizados no momento da incubação podem ser um dos problemas na superestimação desta produção fecal, visto que o tempo de incubação de 288 horas, segundo o INCT-CA (2012), e o procedimento de lavagem subsequente, foram cumpridos conforme as metodologias padrões, incluindo o razoável coeficiente de variação de 12,63% encontrado. Outra observação importante, foi quanto ao procedimento sequencial, da obtenção do FDNi após a MSi que pode ter interferido negativamente nos resultados. Pois mesmo que a obtenção da MSi seja apenas realizada através da simples pesagem do material, o manuseio dos recipientes de filtragem para a consequente obtenção da FDNi, pode ocasionar perdas de material.

4.2 Consumo

O consumo real, em kg de matéria seca, e o estimado pelos indicadores LIPE[®], MSi e FDNi estão demonstrados na tabela 6.

Tabela 6 - Consumo real (coleta total), em kg de matéria seca, e o consumo estimados pelos indicadores LIPE[®], MSi e FDNi

Métodos	0%	2,5%	5%	7,5%	10%	Médias
Coleta total	12,92	13,11	13,39	13,55	13,98	13,39 A
LIPE [®]	13,50	13,12	14,24	14,09	13,71	13,73 AB
MSi	14,42	14,36	16,42	15,37	15,64	15,29 BC
FDNi	14,68	14,46	17,57	16,01	19,60	16,41 C
Médias	13,88	13,76	15,40	14,75	15,74	

0%; 2,5%; 5%; 7,5% e 10% = Níveis de inclusão de glicerina bruta na MS da dieta. Médias seguidas de letras maiúsculas distintas na coluna representam diferenças pelo teste SNK (P<0,05). CV (%) = 17,35.

A não interação entre indicador e dieta, permite a atribuição dos resultados apenas pela avaliação das médias marginais. Quando comparados os consumos nas diferentes inclusões de glicerina bruta na dieta, a ingestão de matéria seca da dieta controle de 0% foi semelhante a todos os níveis de inclusão.

De acordo com Elam et al. (2008), não observaram diferença na ingestão de matéria seca por bovinos alimentados com a adição de 0; 7,5 e 15% de glicerina à dieta, como ocorreu neste trabalho que a inclusão na dieta de até 10% não foi fator para limitar consumo. Os padrões de utilização da glicerina determinado pelo MAPA, foram

atendidos, nenhum dos fatores citados influenciou o consumo dos animais, como demonstrado na tabela 6.

Em trabalho desenvolvido por Farias et al. (2012), não foi encontrado diferença na ingestão de matéria seca das novilhas em pastejo suplementadas com glicerina em inclusão de até 9% na dieta. O mesmo ocorreu com Zawadzki et al. (2010) que avaliaram a inclusão ou não de 17% de glicerol na matéria seca total sobre o peso vivo final (Kg), ganho médio diário (Kg), consumo de matéria seca (kg/dia ou em % do PV), conversão alimentar de machos inteiros da raça Purunã e, observaram que o glicerol não influenciou estas variáveis. Os autores concluíram que a inclusão de glicerol em substituição ao milho na dieta não influencia o desempenho de bovinos de corte.

Quando se avaliou o indicador para a determinação do consumo, algumas mensurações apresentaram diferenças significativas. No caso do LIPE[®], a determinação do consumo demonstrou ser semelhante ao consumo real 13,73 kg/MS e 13,39 kg/MS, respectivamente. Estes resultados demonstraram a capacidade deste indicador em determinar a produção fecal e o consumo, ou seja, o indicador apresentou bem mais homogêneo e semelhante à coleta total, em comparação com os outros indicadores. Isto pode ser devido a técnica de análise do LIPE[®] que é a espectroscopia no infravermelho, uma técnica instrumental muito sensível e a dos indicadores internos MSi e FDNi, uma técnica gravimétrica mais sujeita a erros e menos sensível.

Oliveira (2005) relataram que o LIPE[®], administrado em dose única (15:00 h) em cápsulas contendo 0,5 g, mostrou-se ser um indicador externo capaz de estimar satisfatoriamente o consumo de MS de novilhos da raça Nelore manejados sob condição de pastejo em *Brachiaria brizantha* cv. Marandú.

Semelhante ao LIPE[®], a MSi expressou valor superestimado quando comparado ao padrão (consumo real), com valor de 15,29 kg/MS para MSi, contra 13,39 kg/MS, para o consumo real. Estes resultados demonstram que o principal atributo do indicador, que é determinar a produção fecal, e a partir daí determinar o consumo e a digestibilidade, não foi alcançado pelo indicador MSi. Talvez a complexação da glicerina na fibra possa ter proporcionado um diferente comportamento do indicador, aumentando sua solubilidade no conteúdo ruminal, diminuindo o resíduo nos recipientes de filtragem, visto que as metodologias de avaliação das fibras foram seguidas rigorosamente.

O comportamento da maior estimativa de consumo também foi seguido pela FDNi, apresentando valor de 16,41 kg/MS contra 13,39 kg/MS do consumo real. Seguindo a mesma premissa da produção fecal, a análise sequencial pode ter sido a causa dos resultados encontrados. Aliados a ela, fatores inerentes a solubilidade ruminal e complexação da fibra junto à glicerina pode ter influenciados os valores expressados.

Os consumos de FDN e FDA determinados pela coleta total foram semelhantes entre as diferentes inclusões o que pode ter influenciado o consumo determinados pelas fibras indigestíveis, conforme expresso na tabela 7.

Tabela 7 - Consumo de FDN e FDA, em %, determinados pela coleta total

	0	2,5	5	7,5	10	Medias	CV (%)
CFDN	5,46	5,71	6,25	6,47	6,33	6,04	7,53
CFDA	3,19	3,03	3,38	3,50	3,46	3,31	7,64

0%; 2,5%; 5%; 7,5% e 10% = Níveis de inclusão de glicerina bruta na MS da dieta. Não houve diferença significativa pelo teste SNK (P>0,05).

4.3 Digestibilidade Aparente da Matéria Seca

A digestibilidade aparente da matéria seca (CDAMS) e as digestibilidades estimadas pelos indicadores LIPE[®], MSi e FDNi, em %, são mostrados na tabela 8.

Tabela 8 - Digestibilidade aparente da matéria seca (CDAMS) e digestibilidade estimada pelos diferentes indicadores como LIPE[®], MSi e FDNi, em %

Métodos	0%	2,5%	5%	7,5%	10%	Médias
CDAMS	74,50	74,90	77,01	75,51	74,77	75,33A
LIPE [®]	73,39	74,99	75,43	74,98	76,09	74,97A
MSi	69,82	72,74	71,55	72,36	72,38	71,77B
FDNi	70,52	72,60	69,49	71,36	65,85	69,98B
Médias	72,06	73,81	73,37	73,55	72,29	

0%; 2,5%; 5%; 7,5% e 10% = Níveis de inclusão de glicerina bruta na MS da dieta. Médias seguidas de letras maiúsculas distintas na coluna representam diferenças pelo teste SNK ($P < 0,05$). CV (%) = 5,18.

Pelos dados encontrados na tabela 8, seguindo avaliações pelas médias marginais, não houve diferença nas inclusões de glicerina quando comparados com o grupo controle. Valores estes encontrados possivelmente por ser mesma fonte de fibra na dieta, oriunda da silagem de milho. O comportamento da glicerina, avaliado na união da produção fecal e consumo, não influenciou a digestibilidade da dieta.

Na determinação através do indicador externo LIPE[®], comparados a digestibilidade aparente os resultados de 74,97 e 75,33%, respectivamente, foram semelhantes, corroborando com trabalho de Saliba et al. (2003) que verificaram que não houve diferença para digestibilidade da MS do feno de capim-tifton quando compararam os dados obtidos por meio de coleta total e LIPE[®] (63,23 vs 64,78%, respectivamente).

Já quando utilizados os indicadores internos FDNi e MSi, a menor digestibilidade encontrada, quando comparada a digestibilidade aparente, mais uma vez demonstra a influência possivelmente da glicerina, no comportamento das frações indigestíveis da fibra. Pode ser devido a influência exercida da glicerina na população de bactérias do rúmen, diminuindo a relação acetato:propionato, segundo Trabue et al. (2007), pode ser um fator decisivo na obtenção da digestibilidade da dieta por parte das fibras indigestíveis, devido variação na recuperação do indicador.

Roger et al. (1992), em ensaios *in vitro*, afirmaram que 0,5 e 5,0% de glicerol, inibiram a degradação da celulose por fungos e bactérias respectivamente. Voltando a digestibilidade avaliada apenas nas diferentes inclusões de glicerina bruta na dieta, os resultados obtidos foram semelhantes, porém diferiram quando mensurados pelos diferentes indicadores. Neste contexto, a explicação para a subestimativa da digestibilidade apresentada pela MSi e FDNi, quando comparadas a digestibilidade aparente, pode ser consequência de uma variação na recuperação das frações indigestíveis, pelo tempo de exposição ao ambiente ruminal não suficiente, consequente da modificação da microflora ruminal.

4.4 Digestibilidade Aparente da Proteína Bruta

Na tabela 9 são apresentados dados da digestibilidade aparente da proteína bruta (CDAPB), em %, estimada pela coleta total de fezes e a digestibilidade da PB pelos indicadores LIPE[®], MSi e FDNi.

Tabela 9 - Digestibilidade aparente da proteína bruta (CDAPB) estimado pela coleta total de fezes e a digestibilidade da PB pelos indicadores LIPE[®], MSi e FDNi em %

Métodos	0%	2,5%	5%	7,5%	10%	Médias
CDAPB	84,89	83,46	83,32	82,53	81,42	83,13 A
LIPE [®]	84,28	81,27	81,69	82,05	80,86	82,03 A
MSi	77,52	76,13	72,15	72,97	71,33	74,02 B
FDNi	77,99	75,99	70,02	71,85	64,35	72,04 B
Médias	81,17 a	79,21 ab	76,79 bc	77,35 abc	74,49 c	

0%; 2,5%; 5%; 7,5% e 10% = Níveis de inclusão de glicerina bruta na MS da dieta. Médias seguidas de letras distintas maiúsculas na coluna e minúsculas na linha representam diferença pelo teste SNK ($P < 0,05$). CV (%) = 5,71

Apesar da não interação entre indicador e dieta, a digestibilidade da proteína bruta apresentou um comportamento inesperado, diminuindo à medida que o nível de glicerina bruta da dieta foi aumentando.

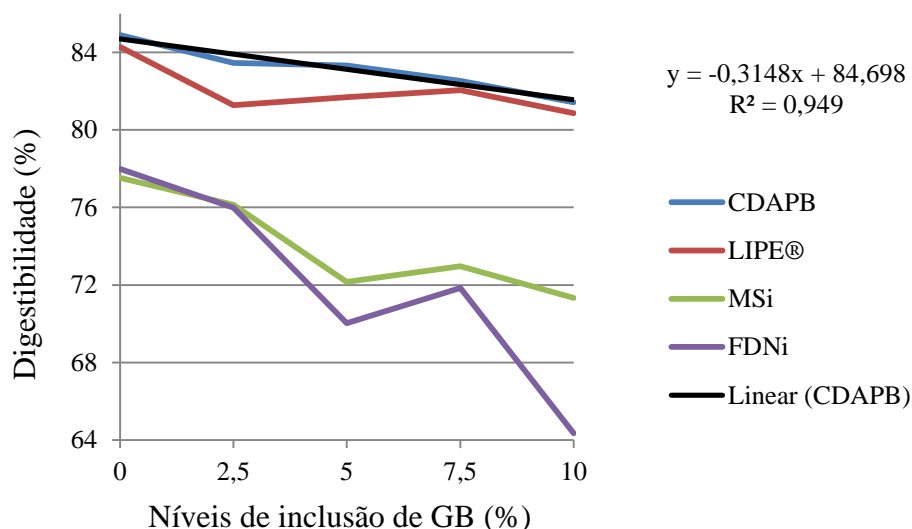
Segundo Trabue et al. (2007), a relação entre acetato:propionato do rúmen, sofre influência a medida em que glicerol é exposto ao ambiente ruminal, diminuindo a relação. Porém, na tabela 8 mostram os resultados desse experimento, que com o acréscimo de glicerina bruta na dieta, a digestibilidade da proteína ficou reduzida, passando de 81,17% da dieta controle (sem glicerina), para 74,49% na dieta com 10% de inclusão de glicerina.

Moura (2013) testando 0; 2,5; 5; 7,5 e 10% de inclusão de glicerina bruta na dieta de novilhas, observou um comportamento semelhante na concentração em mMol de acetato em todos os diferentes níveis de inclusão, porém quando foi avaliada a proporção molar de acetato, este diminuiu a medida que se incluía a glicerina na dieta, reduzindo a relação acetato:propionato no rúmen. Mas, seguindo as mesmas premissas da influência do glicerol na microbiota ruminal, principalmente em relação aos microrganismos celulolíticos, o que houve neste trabalho, foi uma redução na digestibilidade da proteína bruta, à medida que se acrescentava glicerina. Ainda sobre o trabalho de Moura (2013), esta situação pode ser explicada pela não redução do pH em níveis inferiores a 6,2 o que permite uma manutenção da microbiota.

Os níveis intermediários, de 2,5% e 7,5% de inclusão foram semelhantes entre si e semelhantes à dieta controle. Demonstrou-se uma resposta quadrática à medida que a glicerina foi sendo acrescentada na dieta.

Quando a avaliação foi realizada com diferentes indicadores, as respostas foram semelhantes à digestibilidade da matéria seca, onde o LIPE[®] conseguiu avaliar de maneira acurada a digestibilidade da proteína bruta, quando comparadas a digestibilidade aparente. Porém, MSi e FDNi subestimaram a digestibilidade deste nutriente.

Figura 5 - Gráfico de dispersão da avaliação da digestibilidade da proteína bruta pelo CDAPB e pelos indicadores LIPE[®], MSi e FDNi



A figura 5 representada pelo gráfico de dispersão da digestibilidade da proteína bruta mostra a diferença existente entre CDAPB e os demais indicadores, sendo o eixo x representado pelos diferentes níveis de inclusão de GB (%) e o eixo y a digestibilidade (%).

4.5 Digestibilidade Aparente do Extrato Etéreo

Na tabela 10 são apresentados a digestibilidade aparente do extrato etéreo (CDAEE) estimada pela coleta total de fezes e a digestibilidade do extrato etéreo pelos indicadores LIPE[®], MSi e FDNi, em %.

Tabela 10 - Digestibilidade aparente do extrato etéreo (CDAEE), em %, estimada pela coleta total de fezes e a digestibilidade do EE pelos indicadores LIPE[®], MSi e FDNi

Métodos	0%	2,5%	5%	7,5%	10%	Médias
CDAEE	89,93	90,63	85,14	83,28	69,72	83,73 A
LIPE [®]	89,46	89,14	83,73	82,16	68,77	82,65 AB
MSi	84,93	86,11	74,67	73,61	57,53	75,37 BC
FDNi	85,20	86,09	72,15	72,42	45,01	72,17 C
Médias	87,37 ab	87,99 a	78,92 bc	77,87 c	60,26 d	

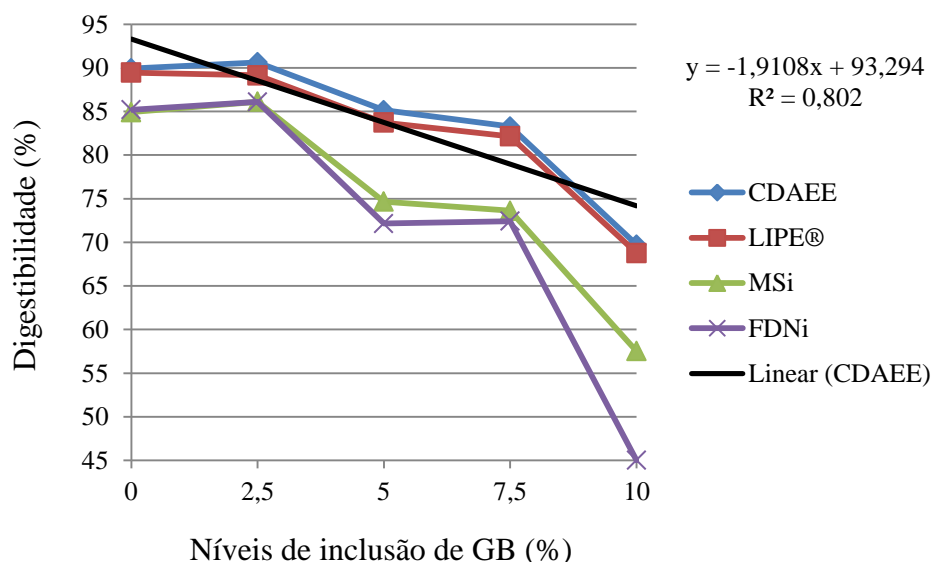
0%; 2,5%; 5%; 7,5% e 10% = Níveis de inclusão de glicerina bruta na MS da dieta. Médias seguidas de letras distintas maiúsculas na coluna e minúsculas na linha representam diferença pelo teste SNK ($P < 0,05$). CV (%) = 12,66

Semelhante à resposta da digestibilidade da proteína bruta, a digestibilidade do extrato etéreo também foi influenciada à medida que os teores de glicerina eram aumentados. Mesmo com dietas isoenergéticas, 10% de inclusão de glicerina bruta na dieta reduziu quase 27 pontos percentuais, na digestibilidade da dieta, onde 87,37% correspondiam a digestibilidade do extrato etéreo da dieta controle e 60,26% a digestibilidade do extrato etéreo da dieta com 10% de inclusão de glicerina bruta.

Segundo Lage et al. (2010), aumentar os níveis de extrato etéreo na dieta podem prejudicar a atividade dos microorganismos ciliados, principalmente os celulolíticos. Sendo o aumento da inclusão de glicerina bruta uma possível queda na diminuição da atividade celulolítica do rúmen, contribuindo no geral, para a queda da digestibilidade do extrato etéreo.

Em relação aos indicadores, quando comparados à coleta total de fezes, a digestibilidade do extrato etéreo encontrada pelo LIPE[®], foi semelhante, com valores de 83,73% e 82,65%, respectivamente. A MSi, quando comparada com o LIPE[®], apresentou resultados semelhantes, porém quando comparada a coleta total de fezes, estes resultados foram subestimados. Já a FDNi, os resultados foram semelhantes a MSi, porém subestimados quando comparados com a coleta total de fezes, visto seus resultados, na expressão da PB e MS, já era de se esperar a baixa recuperação fecal da FDNi, como consequência a subestimativa da digestibilidade do extrato etéreo.

Figura 6 - Gráfico de dispersão da avaliação da digestibilidade do extrato etéreo pelo CDAEE e pelos indicadores LIPE[®], MSi e FDNi



Podemos observar que na figura 6 representada pelo gráfico de dispersão da digestibilidade do extrato etéreo, a diferença existente entre CDAEE e os demais indicadores, sendo o eixo x representado pelos diferentes níveis de inclusão de GB (%) e o eixo y a digestibilidade (%).

4.6 Digestibilidade Aparente da Fibra em Detergente Neutro

Demonstrados na tabela 11 a digestibilidade aparente da fibra em detergente neutro (CDAFDN), em %, estimada pela coleta total de fezes e a digestibilidades da FDN pelos indicadores LIPE[®], MSi e FDNi.

Tabela 11- Digestibilidade aparente da fibra em detergente neutro (CDAFDN) estimada pela coleta total de fezes e a digestibilidade da FDN pelos indicadores LIPE[®], MSi e FDNi, em %

Métodos	0%	2,5%	5%	7,5%	10%	Médias
CDAFDN	59,33a	63,31a	66,59a	65,26a	62,31 ^a	63,36*
LIPE [®]	58,57a	58,92a	63,85a	64,94a	61,46 ^a	61,54*
MSi	40,79b	47,87b	44,91b	47,14b	41,93b	44,52*
FDNi	41,78 Ab	47,56 Ab	41,08 Ab	45,06 Ab	28,62 Bc	40,82*

0%; 2,5%; 5%; 7,5% e 10% = Níveis de inclusão de glicerina bruta na MS da dieta. Médias seguidas de letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna representam diferença pelo teste SNK ($P < 0,05$). CV (%) = 10,04

* Houve interação entre indicador e tratamento, valores de médias apenas para ilustração.

O comportamento da digestibilidade da FDN foi diferente dos demais nutrientes estudados. A presença de interação entre indicador e dieta demonstra que, possivelmente, houve modificação no processo digestivo da fração fibrosa da dieta, mesmo sendo oriunda da mesma fonte em todos os tratamentos, no caso, a silagem de milho.

Em avaliação considerando a mesma técnica de aferição, começando primeiro pela coleta total, todos os diferentes níveis de inclusão não resultaram em diferença na determinação da digestibilidade da FDN, já que poderia ser esperada por influência da glicerina na microbiota ruminal, reduzindo bactérias celulolíticas, e conseqüentemente a redução na digestibilidade da fibra. Porém esta aferição pode ser levada em consideração apenas entre os níveis de inclusão, caso houvesse diferença.

O excesso de EE exerce efeito tóxico sobre os microrganismos inibindo o crescimento de bactérias, especialmente, as celulolíticas e os protozoários (Tamminga & Doreau, 1991), além de causar o encapsulamento da fibra, dificultando a adesão dos microrganismos à parede celular (Jenkins & McGuire, 2006). Meneses (2013) trabalhando com glicerina para vacas leiteiras, nas inclusões de 0, 5, 10, 15 e 20%, não observou redução na digestibilidade da FDN até 10% de inclusão, o que corrobora com este trabalho, lembrando que as dietas foram formuladas para serem isoenergeticas. Quando, as metodologias de aferição envolvem diferentes indicadores, sejam eles externos, como LIPE[®], ou internos, MSi e FDNi, ficou comprovado que apenas o LIPE[®] conseguiu apresentar resultados semelhantes com os dados obtidos pela coleta total para a digestibilidade da FDN, já MSi e FDNi, resultaram em uma menor digestibilidade da FDN para todos os níveis de inclusão.

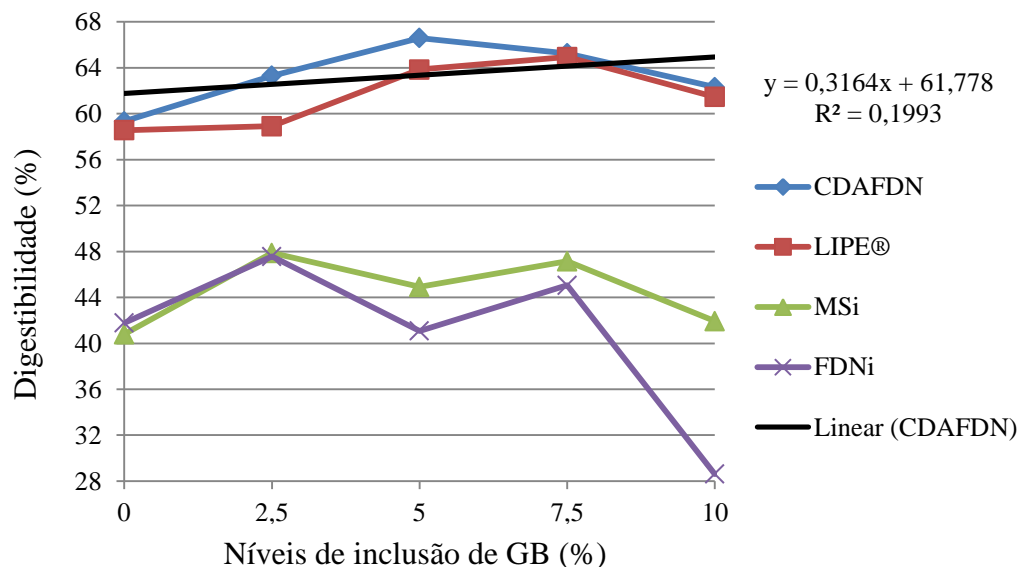
A FDNi, ainda apresentou resultados diferenciados quando comparada entre si nos diferentes níveis de inclusão, com diminuição da digestibilidade da FDN, da dieta controle de 41,78% para 28,62% na dieta com 10% de inclusão de glicerina bruta.

Os resultados encontrados mostram que a glicerina pouco influenciou, quando a digestibilidade da FDN foi aferida com base na coleta total ou pela utilização do indicador LIPE[®], o que vai contra determinações que alguns autores como Fávoro (2010) que trabalhou com os níveis de 0, 5, 10, 15 e 20% de glicerina em substituição ao milho na MS em dietas para bovinos, observou que a adição de glicerina, reduziu os níveis de extrato etéreo e carboidratos não fibrosos da dieta e, conseqüentemente, seu consumo, apresentando também redução na digestibilidade da FDN e CNF.

O que foi observado neste experimento foi que a digestibilidade aferidas pelas frações fibrosas indigestíveis não foram suficientemente capazes de determinar a digestibilidade da FDN. Talvez a recuperação dos indicadores frente aos tratamentos

físicos impostos ao mesmo, como tempo de exposição e lavagens, promoveu esta diminuição da digestibilidade.

Figura 7 - Gráfico de dispersão da avaliação da digestibilidade da fibra em detergente neutro pelo CDAFDN e pelos indicadores LIPE[®], MSi e FDNi



A figura 7 representada pelo gráfico de dispersão da digestibilidade da fibra em detergente neutro mostra a diferença existente entre CDAFDN e os demais indicadores, sendo o eixo x representado pelos diferentes níveis de inclusão de GB (%) e o eixo y a digestibilidade (%).

4.7 Digestibilidade Aparente da Fibra em Detergente Ácido

Na tabela 12 são apresentados a digestibilidade aparente da fibra em detergente ácido (CDAFDA) estimada pela coleta total de fezes e a digestibilidade da FDA pelos indicadores LIPE[®], MSi e FDNi, em %.

Tabela 12- Digestibilidade aparente da fibra em detergente ácido (CDAFDA), em %, estimada pela coleta total de fezes e a digestibilidade da FDA pelos indicadores LIPE[®], MSi e FDNi

Métodos	0%	2,5%	5%	7,5%	10%	Médias
CDAFDA	61,80a	61,44a	66,52a	60,46a	60,06a	62,05*
LIPE [®]	61,06a	56,67a	63,96a	62,21a	59,15a	60,61*
MSi	44,32b	44,96b	45,09b	43,06b	38,78b	43,24*
FDNi	45,33 Ab	44,59 Ab	41,15 Ab	40,83 Ab	24,53 Bc	39,28*

0%; 2,5%; 5%; 7,5% e 10% = Níveis de inclusão de glicerina bruta na MS da dieta. Letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna representam diferença pelo teste SNK ($P < 0,05$). CV (%) = 12,58

* Houve interação entre indicador e tratamento, valores de médias apenas para ilustração.

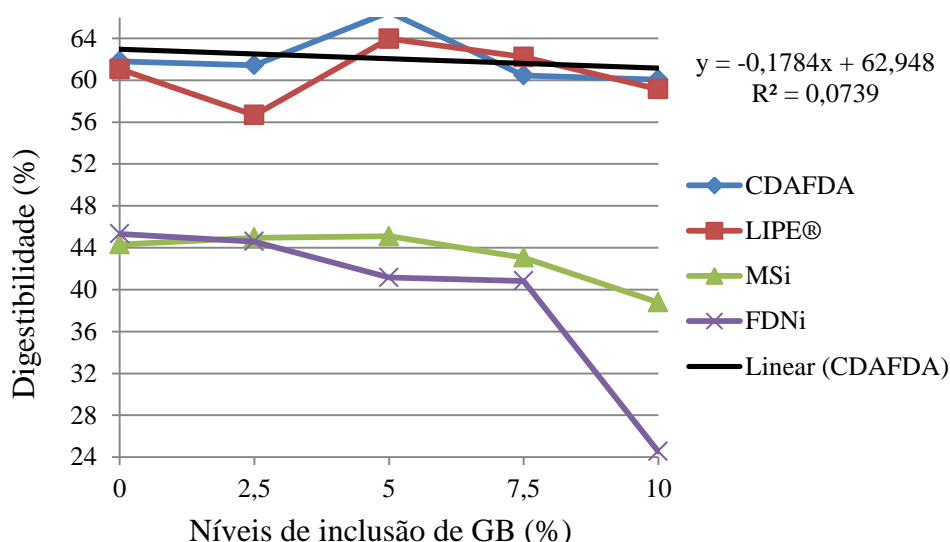
O comportamento da digestibilidade da FDA foi semelhante ao encontrado na FDN, existindo interação entre indicador, dieta e até mesmo os níveis de inclusão. Ficou

comprovado que quando se resume a avaliação em apenas a coleta total de fezes e o nível de inclusão da glicerina bruta, não existe diferença na digestibilidade da FDA.

Este mesmo comportamento serve para o indicador LIPE[®], que não diferencia da coleta total e nem entre as diferentes inclusões. Atribuições a estes resultados são dadas a possível não variação observada na relação entre acetato:propionato, gerando uma manutenção da microflora ruminal.

Quando a observação da digestibilidade da FDA é realizada pelos indicadores internos MSi e FDNi, é continuado a subestimativa dos valores, como ocorreu com os demais parâmetros já citados. Na grande maioria, semelhantes entre si, a MSi e FDNi, apenas observa-se um resultado inferior para FDNi, quando incluiu-se 10% de glicerina na dieta. Atribuindo a mesma teria dos demais resultados já encontrados, a possibilidade do tempo de exposição dos recipientes de filtragem não ter sido suficientes pode ter resultado nestes valores.

Figura 8 - Gráfico de dispersão da avaliação da digestibilidade da fibra em detergente ácido pelo CDAFDA e pelos indicadores LIPE[®], MSi e FDNi



Ao observarmos a figura 8 representada pelo gráfico de dispersão da digestibilidade da fibra em detergente ácido mostra a diferença existente entre CDAFDA e os demais indicadores, sendo o eixo x representado pelos diferentes níveis de inclusão de GB (%) e o eixo y a digestibilidade (%).

4.8 Digestibilidade Aparente da Energia Bruta

Na tabela 13 são exibidos a digestibilidade aparente da energia bruta (CDAEB), em %, estimada pela coleta total de fezes e a digestibilidade da EB pelos indicadores LIPE[®], MSi e FDNi.

Tabela 13- Digestibilidade aparente da energia bruta (CDAEB), em %, estimada pela coleta total de fezes e a digestibilidade da EB pelos indicadores LIPE[®], MSi e FDNi

Métodos	0%	2,5%	5%	7,5%	10%	Médias
CDAEE	75,09a	75,88a	77,68a	76,24a	75,52a	76,08*
LIPE [®]	74,07a	73,07a	75,93a	76,03a	74,93a	74,80*
MSi	63,62b	65,79b	63,35b	63,91b	62,32b	63,79*
FDNi	64,24 Ab	65,60Ab	60,72Ab	62,51Ab	53,47Bc	61,22*

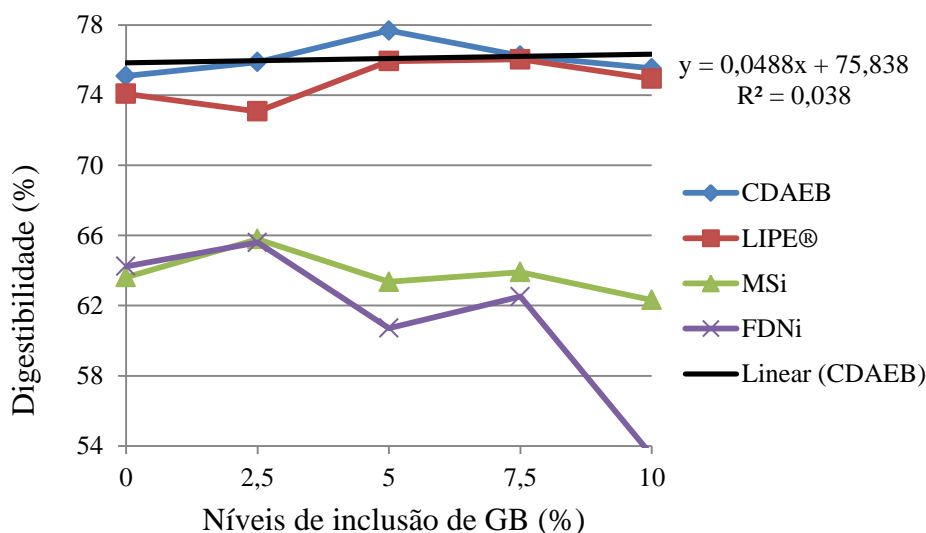
0%; 2,5%; 5%; 7,5% e 10% = Níveis de inclusão de glicerina bruta na MS da dieta. Letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna representam diferença pelo teste SNK ($P < 0,05$). CV (%) = 5,13

* Houve interação entre indicador e tratamento, valores de médias apenas para ilustração.

Na tabela 13 podemos interpretar que houve interação entre os níveis de inclusão de glicerina bruta e os diferentes indicadores. A partir dessa observação os valores da digestibilidade da EB avaliados pela coleta total de fezes em todas as dietas expressaram valores semelhantes. Como ocorre na avaliação pelo LIPE[®] e MSi. Já os valores expressados pelo indicador FDNi foram semelhantes as digestibilidades da EB nas inclusões de 0; 2,5; 5 e 7,5% de glicerina bruta, diferindo da inclusão de 10%.

Os valores expressados pelo LIPE[®] nas diferentes inclusões foram semelhantes aos observados pela coleta total de fezes, já os indicadores internos subestimaram os valores de digestibilidade da EB.

Figura 9 - Gráfico de dispersão da avaliação da digestibilidade da energia bruta pelo CDAEB e pelos indicadores LIPE[®], MSi e FDNi



A figura 9 representada pelo gráfico de dispersão da digestibilidade da energia bruta mostra a diferença existente entre CDAEB e os demais indicadores, sendo o eixo x representado pelos diferentes níveis de inclusão de GB (%) e o eixo y a digestibilidade (%).

4.9 Digestibilidade Aparente dos Carboidratos Não Fibrosos

A digestibilidade aparente dos carboidratos não fibrosos (CDACNF), em %, estimado pela coleta total de fezes e a digestibilidade do CNF pelos indicadores LIPE[®], MSi e FDNi comparados com a coleta total de fezes são apresentados na tabela 14.

Tabela 14- Digestibilidade aparente dos carboidratos não fibrosos, em %, estimada pela coleta total de fezes e a digestibilidade do CNF pelo LIPE[®], MSi e FDNi

Métodos	0%	2,5%	5%	7,5%	10%	Médias
CDACNF	86,62	84,61	87,62	88,51	91,28	87,73 A
LIPE [®]	86,08	82,72	86,48	88,47	90,72	86,89 A
MSi	80,15	77,94	79,73	82,68	85,45	81,19 B
FDNi	80,47	77,88	78,42	82,14	81,79	80,14 B
Médias	83,33 abc	80,79c	83,06bc	85,44 ab	87,31 a	

0%; 2,5%; 5%; 7,5% e 10% = Níveis de inclusão de glicerina bruta na MS da dieta. Médias seguidas de letras distintas maiúsculas na coluna e minúsculas na linha representam diferença pelo teste SNK ($P < 0,05$). CV (%) = 5,72

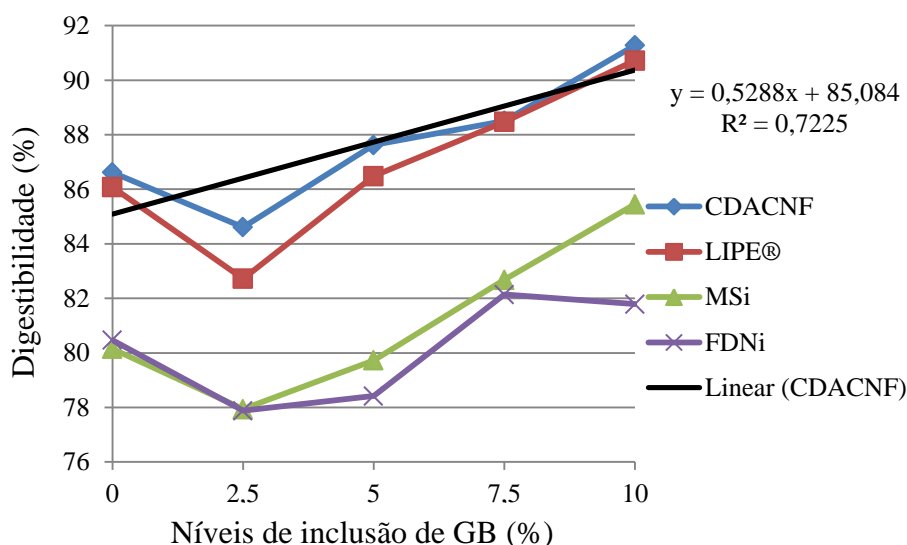
A interpretação dos dados observados na tabela 14 mostram que não houve interação entre os indicadores e as dietas. Mas podemos avaliar a digestibilidade dos carboidratos não fibrosos pelas médias marginais entre os indicadores comparados com a coleta total de fezes e as cinco inclusões de glicerina bruta na dieta.

Quando avaliadas a digestibilidade dos CNF entre os diferentes níveis de inclusão de glicerina bruta, observa-se uma menor digestibilidade do CNF quando incluído 2,5% de glicerina comparada ao de 7,5 e 10%. Quando todos os níveis de inclusão são comparados com a dieta controle, não houve diferença significativa.

Esse comportamento encontrado em relação às digestibilidades demonstra que em até 10% de inclusão de glicerina não resultou em diferença estatística na digestibilidade do CNF, mesmo quando o fubá de milho foi totalmente retirado da dieta. Talvez a fonte de volumoso – silagem de milho - manteve a digestibilidade do CNF. Provavelmente outra fonte de volumoso poderia ter expressado resultados diferentes como no trabalho de Farias (2011), onde a ingestão de carboidratos não fibrosos e de carboidratos totais apresentou redução linear ($P < 0,05$) em função dos níveis de glicerina às dietas. Nesse trabalho foi utilizado como fonte de volumoso a pastagem *Brachiaria brizanta* cv. Marandu.

Ao avaliarmos a digestibilidade dos CNF (expresso em porcentagem na matéria seca) pelos indicadores, verificamos que o LIPE[®] foi semelhante à coleta total, sendo 86,89 e 87,73% respectivamente. Já os indicadores internos MSi e FDNi foram diferentes e com valores inferiores a coleta total de fezes, no qual foram 81,19; 80,14 e 87,73% respectivamente. A recuperação incompleta da fração indigestível das fibras promoveu essa subestimativa da digestibilidade de CNF. O comportamento dos indicadores MSi e FDNi neste trabalho vem demonstrando a não confiabilidade de serem utilizados. Fatores como, a complexação da fibra com a glicerina ou tempo de exposição do material ao ambiente ruminal podem ter sido decisivos na recuperação fecal desses indicadores.

Figura 10 - Gráfico de dispersão da avaliação da digestibilidade dos carboidratos não fibrosos pelo CDACNF e pelos indicadores LIPE[®], MSi e FDNi



A figura 10 representada pelo gráfico de dispersão da digestibilidade dos carboidratos não fibrosos mostra a diferença existente entre CDACNF e os demais indicadores, sendo o eixo x representado pelos diferentes níveis de inclusão de GB (%) e o eixo y a digestibilidade (%).

5. CONCLUSÕES

A inclusão de até 10% de glicerina bruta em dieta a base de silagem de milho não interfere no consumo de novilhas leiteiras.

A digestibilidade aparente da matéria seca não sofreu influência das diferentes inclusões de glicerina bruta na dieta.

O indicador externo LIPE[®] foi capaz de determinar a produção fecal das novilhas com dietas a base de silagem de milho com inclusão de até 10% de glicerina bruta.

Os indicadores internos MSi e FDNi superestimaram a produção fecal das novilhas com dietas a base de silagem de milho com inclusão de até 10% de glicerina bruta.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A ingestão de matéria seca das diferentes inclusões de glicerina na dieta mostrou que não houve diferença em nenhum dos níveis comparados com a dieta controle. Mais estudos são necessários para verificar o nível máximo de inclusão da glicerina bruta na dieta de novilhas leiteiras.

Quando utilizados diferentes indicadores para provar a teoria da avaliação da digestibilidade, de maneira indireta, os resultados foram distintos, sejam eles por falhas na metodologia, ou por comportamento inesperado dos indicadores em avaliação. O LIPE[®] mostrou ser eficiente em estimar o consumo, a produção fecal e a digestibilidade quando comparado com a coleta total. As fibras indigestíveis demonstraram ineficiência quando utilizadas em dietas contendo glicerina bruta.

A porosidade do recipiente de filtragem correlacionada ao tamanho de partículas e o tempo de exposição ao rúmen podem ter sido um dos problemas na avaliação da

produção fecal, da digestibilidade e do consumo. Outra observação importante, foi quanto ao procedimento sequencial, da obtenção do FDNi após a MSi que pode ter interferido negativamente os resultados. Pois mesmo que a obtenção da MSi seja apenas realizada através da simples pesagem do material, o manuseio dos recipientes de filtragem para a consequente obtenção da FDNi, pode ocasionar perdas de material. propondo que em novos trabalhos, deve-se evitar a análise sequencial.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLA, A. L.; SILVA FILHO, J. C.; GODOI, A. R. et al. Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 37, n. spe, July 2008.

ALVES, K. S.; CARVALHO, F. F. R.; FERREIRA, M. A. et al. Níveis de energia em dietas para ovinos Santa Inês: digestibilidade aparente. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.32, p.1962-1968, 2003.

ANUÁRIO ESTATÍSTICO BRASILEIRO DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS (ANP). Disponível em:<<http://www.anp.gov.br>> Acessado em: 22 jan. 2015.

AVILA, J. S.; CHAVES, A. V.; HERNANDEZ-CALVAB, M. et al. Effects of replacing barley grain in feedlot diets with increasing levels of glycerol on in vitro fermentation and methane production. *Animal Feed Science and Technology*. Sydney, NSW, Australia. 166 a 167p. 2011.

BERCHIELLI, T. T. et al. Comparação de indicadores de fase sólida para medir fluxo de matéria seca e matéria orgânica no duodeno. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v. 50, n. 2, p.147-152, 1998.

BERCHIELLI, T. T.; ANDRADE, P.; FURLAN, C. L. et al. Avaliação de indicadores internos em ensaios de digestibilidade. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.29, p.830-833, 2000.

BERCHIELLI, T. T.; OLIVEIRA, S. G.; FEITOSA, W. et al. Estimativas da produção fecal e digestibilidade total em bovinos por meio de indicadores. IN: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42. Goiânia. Anais...: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2005.

BERCHIELLI, T. T.; OLIVEIRA, S. G.; GARCIA, A. V. Aplicação de técnicas para estudos de ingestão, composição da dieta e digestibilidade. *Archives of Veterinary Science*, v. 10, n. 2, p. 29-40, 2005.

BERGNER, H., C. KIJORA , Z. CERESNAKOVA, and J. SZAKACS. 1995. In vitro studies on glycerol transformation by rumen microorganisms. *Arch Tierernahr*. 48:245-256.

BIODIESEL BRASIL (Biodieselbr). 2014. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/plantas/sebo.htm>>. Acesso em: 23 de janeiro de 2015.

BLACK, K.; EELLS, J.; NOKERT, P.; et al. Role of hepatic tetrahydrofolate in the species difference in methanol toxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, v. 82, p. 3854-3858, 1985.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2010. Secretaria e Produção e Agroenergia. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>>. Acesso em: 25 de janeiro de 2015.

CABRAL, L. S.; NEVES, E. M. O.; ZERVOUDAKIS, J. T. et al. Estimativas dos requisitos nutricionais de ovinos em condições brasileiras. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v.9, n.3, p.529-542, 2008.

CARVALHO, P. L. O.; MOREIRA, I.; PIANO, M. L. et al. Valor nutricional da glicerina bruta e semi-purificada na alimentação de suínos na fase de crescimento. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47. 2010, Salvador. Anais... Salvador: SBZ, 2010. 1 CD-ROM.

CARVALHO, E. R.; SCHMELZ-ROBERTS, N. S.; WHITE, H. M. et al. Replacing corn with glycerol in diets for transition dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2011;94(2):908e16

COCHRAN, R. C.; ADAMS, D. C.; WALLACE J. D. et al. Predicting digestibility of different diets with internal markers: evaluation of four potential markers. *Journal of Animal Science*, v.63, p.1476-1483, 1986.

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

DASARI, M. A.; KIATSIMKUL, P. P.; SUTTERLIN, W. R.; SUPPES, G. J. Low-pressure hydrogenolysis of glycerol to propylene glycol. *Applied Catalysis General*, London, v. 281, p. 225-231, 2005.

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

DETMANN, E.; SOUZA, A. L.; GARCIA, R.; et al. Avaliação do vício de “tempo longo” de indicadores internos em ensaio de digestão com ruminantes. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.59, n.1, p.182-188, 2007.

DETMANN, E. *Métodos para análises de alimentos INCT- Ciência animal*. 2012. Ed. UFV. 214 p.

DIAS, M.; DETMANN, E.; LEAO, M. I. et al. Indicadores para estimativa da digestibilidade parcial em bovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36: 689-697. 2007.

DONKIN, S. S. Glycerol from biodiesel production: the new corn for dairy cattle. *Journal of Animal Science*, v. 37, suppl., p. 280-286, 2008.

DOZIER, W. A.; KERR, B. J.; CORZO, A et al. Apparent metabolizable energy of glycerin for broiler chickens. *Poultry Science*, Ames, v. 87, p. 317-322, 2008.

DRACKLEY, J. K. Opportunities for glycerol use in dairy diets. In: STATE DAIRY NUTRITION AND MANAGEMENT CONFERENCE, 4., 2008, Dubuque. Proceedings... Dubuque: SDN, 2008. 1 CD-ROM.

ELAM, N.A.; ENG., K.S.; BECHTEL, B. et al. Glycerol from Biodiesel Production: Considerations for feedlot diets. PROCEEDINGS OF THE SOUTHWEST NUTRITION CONFERENCE. Tempe AZ. n.21, 2008.

FARIAS, M. S. *Níveis de glicerina para novilhas mestiças criadas a pasto: desempenho animal e comportamento ingestivo*. 2011. 67 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Maringá – Maringá.

FARIAS, M. S.; PRADO, I. N.; VALERO, M. V. et al. Níveis de glicerina para novilhas suplementadas em pastagens: desempenho, ingestão, eficiência alimentar e digestibilidade. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 33, n. 3, p. 1177-1188, maio/jun. 2012.

FÁVARO, V. R. *Utilização de glicerina, subproduto do Biodiesel, na alimentação de bovinos*. 2010. 59 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal, 2010.

FONDEVILA, M.; CASTRILLO, C.; GASA, J. et al. Rumen-undegradable dry matter and neutral detergent fibre as ratio indicators of digestibility in sheep given cereal straw-based diets. *Journal Agriculture Science*, v.125, p.145- 151, 1995.

FURLAN, A.C.; BATISTA, E.; MURAKAMI, A.E. et al. Composição química e valores de energia metabolizável da glicerina bruta e semipurificada, proveniente de gordura vegetal, para codornas de corte em crescimento. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47. 2010, Salvador. Anais... Salvador: SBZ, 2010. 1 CD-ROM.

GARTON, G.A., A.K. LOUGH AND E. VIOQUE. 1961. Glyceride hydrolysis and glycerol fermentation by sheep rumen contents. *J. Gen. Microbiol.* 25:215-225.

GOLOMBSKI, G.; RAETH-KNIGHT, M.; ZIEGLER, B. et al. Performance of post-weaned holstein heifer calves fed grain mixes with glycerin as an energy source. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 92, n. 1, p. 87, Jan. 2009.

HENN, J. D. & ZANIN, A. O agronegócio do biodiesel: potencialidades e limitações da utilização da glicerina (coproduto) na alimentação de suínos e de aves. SOBER, 47° CONGRESSO. Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural. Porto Alegre, 26 a 30 de julho de 2009.

HOBSON, N. & MANN, S. O. 1961. The isolation of glycerol-fermenting and lipolytic bacteria from the rumen of the sheep. *J. Gen. Microbiol.* 25, 227.

ILSE, B. R.; ANDERSON, V. L. Effect of glycerol in feedlot diets on animal performance. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 92, n. 1, p. 89, Jan. 2009.

ÍTAVO, L. C. V.; VALADARES FILHO, S. C.; SILVA, F. F. et al Consumo, degradabilidade ruminal e digestibilidade aparente de fenos de gramíneas do gênero *Cynodon* e rações concentradas utilizando indicadores internos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, p.1024-1032, 2002.

JACOBSEN, D. & MCMARTIN, K. Methanol and ethylene glycol poisonings. Echanism of toxicity, clinical course, diagnosis and treatment. *Medical Toxicology*, New Zealand, v. 1, n. 5, p. 309-34, 1986.

JOHLIN, F.; FORTMAN, C.; NGHIEM, D.; LIN,C. Studies on the role of folic acid and folate-dependent enzymes in human methanol poisoning. *Molecular Pharmacology*, New York, v. 31, n. 5, p. 557-561, 1987.

JOHNS, A. T. 1953. Fermentation of glycerol in the rumen of sheep. *New Zealand J. Sci. Technol.* 35:262-269.

LEHNINGER, A.L. Glicólise. In: *Princípios de Bioquímica*: LEHNINGER, A.L., NELSON, D.L.; COX, M.M. 3ª EDIÇÃO 2002.

KATO, T.; HAYASHI, Y.; INQUE, K.; YUASA H. Functional characterization of the carrier-mediated transport system for glycerol in everted sacs of the rat small intestine. *Biological Pharmacology Bulletin*, Tokyo, v. 27, n. 11, p. 1826-1830, 2004.

KIRK-OTHMER, E. T. Glycerol. In: AMERICAN SOCIETY OF CHEMISTRY. *Encyclopedia of chemical technology*. 5th ed. New York: John Wiley, 2007. p. 212-216.

KOZLOSKI, G.V. *Bioquímica dos ruminantes*. 1.ed. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2002. 140p.

KRAUSE, L.C. *Desenvolvimento do processo de produção de biodiesel de origem animal*. 2008. 147p. (Doutorado em Química) - – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

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

LAGE, J. F.; PAULINO, P. V. R.; VALADARES, S. C. Glicerina bruta na alimentação de cordeiros em confinamento e seus efeitos sobre o peso e rendimento de cortes comerciais da carcaça. ABZ – ZOOTECA, Águas de Lindóia-SP, maio 2009.

LAMMERS, P.J; HONEYMAN, M.S; BREGENDAHL, K. Iowa State University Animal Industry Report. 2007. Energy Value of Crude Glycerol Fed to Pigs. A.S. Leaflet R2225.

LAMMERS, P.; KERR, B.J.; HONEYMAN, M. et al. Nitrogen-corrected apparent metabolizable energy value of crude glycerol for laying hens. *Journal of Animal Science*, Champaign, v.87, n. 1, p. 104-107, 2008b.

LIMA, L. P.; VELOSO, C. M.; SILVA, F. F. et al. Bagaço de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) na dieta de vacas leiteiras: consumo de nutrientes. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.60, p.1004-1010, 2008.

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

LIPPKE, H.; ELLIS, W. C.; JACOBS, B. F. Recovery of indigestible fiber from feces of sheep and cattle on forage diets. *Journal of Dairy Science*, v.69, n.2, p.403-412, 1986.

LOPES, F. C. F. Consumo de forrageiras tropicais por vacas em lactação sob pastejo em sistemas intensivos de produção de leite. III SIMPÓSIO DE NUTRIÇÃO E PRODUÇÃO DE GADO DE LEITE: PRODUÇÃO DE LEITE EM PASTO. Escola de Veterinária da UFMG, Anais...2007.

MAEDA, E.M.; ZEOULA, L.M.; GOMES, H.C.C. et al. Avaliação de indicadores usados nos estudos de ingestão e digestibilidade em bovinos e bubalinos. *Arquivo Brasileiro de Zootecnia*. 60 (229): 123-131. 2011.

MENTEN, J. F. M.; MIYADA, V. S.; BERENCHTEIN, B.. Glicerol na alimentação animal. In: Simpósio sobre Manejo e Nutrição de Aves e Suínos, 2008, Campinas, SP. SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS. Campinas, SP : Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2008. p. 101-114.

MERCHEN, N. R. Digestion, absorption and excretion in ruminants. In: CHURCH, D.C. (Ed.) *The ruminant animal digestive physiology and nutrition*. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 1988. p.172-201.

MERCHEN, N.R. 1993. Digestion, absorption and excretion in ruminantes. In: Church, D.C. (Ed.). *The ruminant animal digestive physiology and nutrition*. 4th ed. O&B Books. Corvalli-OR. USA. pp. 172-201.

MERLO, F. A.; SILVA, A. G. M.; BORGES, I. et al. Avaliação do LIPE como indicador externo de digestibilidade em ovinos recebendo dietas com farelo de coco. In: ZOOTECA. João Pessoa: ABZ, Anais... 2008.

MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA (MME). Disponível em: <<http://www.mme.gov.br/programas/biodiesel/menu/biodiesel/perguntas.html>>. Acesso em: 23 de janeiro de 2015.

MORAES, K. A. K.; VALADARES FILHO, S. C.; MORAES, E. H. B. K. et al. Consumo de novilhas de corte alimentadas com cana-de-açúcar com óxido de cálcio e diferentes ofertas de concentrado. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 44., Jaboticabal. Anais... SBZ, 2007. CD-ROM.

MORIN, P.; HAMAD, B.; SAPALY, G. et al. Transesterification of rapeseed oil with ethanol. *Applied Catalysis A: General*, v.330, p.69-76, 2007.

MORRISON, L.R. Glycerol. In: Encyclopedia of Chemical Technology. New York: Wiley, 1994. p. 921-932.

MOURA, S. B. *Cinética digestiva e parâmetros ruminais em novilhas leiteiras alimentadas com diferentes níveis de inclusão de glicerina bruta*. 2013. 89 P. Dissertação (Mestrado em Nutrição Animal). Universidade Federal de Minas Gerais – Escola de Veterinária. Belo Horizonte – MG.

NRC – National Research Council. Nutrient Requirements of Beef Cattle. Updated 7th.ed. Washington, DC: *National Academy Press*, 2000. 242p.

OLIVEIRA, M. A. *Proporção de forragem e teor de lipídios, na dieta de vacas leiteiras, sobre o consumo, a produção e composição do leite*. 2005. 63f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte.

OOI, T.L.; YONG, K.C.; HAZIMAH, A.H.; DZULKEFLY, K.; WAN-YUNUS, W. M. Z.; Glycerol residue – a rich source of glycerol and medium chain fatty acids. *Journal of Oleo Science*, Tokyo, v. 53, n. 1, p. 29-33, 2004.

OWENS, F. N.; HANSON, C. F. External and internal markers for appraising site and extent of digestion in ruminants. *Journal of Dairy Science*, v. 75, n. 9, p. 2605-2617, 1992.

PARENTE, E.J.S. *Biodiesel: uma aventura tecnológica num país engraçado*. Fortaleza: Unigráfica, 2003. 66 p.

PEGORARO, J.; SALEM, N. F. M.; ANDREAZZI, M. A. et al. Uso de Glicerina na Alimentação Animal. Anais Eletrônico. VI MOSTRA INTERNA DE TRABALHOS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 23 a 26 de outubro de 2012.

PENNING, P. D.; JOHNSON, R. H. The use of internal markers to estimate herbage digestibility and intake. *Journal of Agricultural Science*, v.100, p.127-131, 1983.

PIAGGIO, L. M. et al. Avaliação das cinzas insolúveis em ácido, fibra detergente ácido indigestível e lignina em detergente ácido indigestível como indicadores internos da digestibilidade. *Revista Brasileira de Zootecnia*. v. 20, n. 3, p. 306-312, 1991.

REMOND, B., E. SOUDAY, J.P. JOUANY. 1993. In vitro and in vivo fermentation of glycerol by rumen microbes. *Anim. Feed Sci. Technol.* 41:121-132

RIVALDI, J. D.; SARROUH, B. F.; FIORILLO, R.; SILVA, S. S. Glicerol de Biodiesel. *Biotec. Ciên. e Desenvolvimento*, v. 37, p.44-51, 2007.

RIVALDI, J.D.; SARROUH, B.F.; FIORILO, R.; SILVA, S.S. Estratégias biotecnológicas para o aproveitamento do glicerol gerado da produção de biodiesel. *Biotechnology, Ciência & Desenvolvimento*, Brasília, v. 37, p. 44-51, 2008.

ROBERGS, R.A. & GRIFFIN, S.E. Glycerol: biochemistry, pharmacokinetics and clinical and practical applications. *Sports Medicine* 26:145-167, 1998.

RODRIGUEZ, N. M.; SALIBA, E. O. S.; GUIMARÃES JÚNIOR, R. Uso de indicadores para estimativa de consumo a pasto e digestibilidade. In: 43ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, João Pessoa. SBZ, Anais...2006.

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. *Curr. Microbiol.* v.25, p.197-201, 1992

ROSTAGNO, H.S. *Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais*. 3. ed. Viçosa: UFV, Depto. de Zootecnia, 2011. 244p.

RUSSELL, J. B.; WALLACE, R. J.. Energy-yielding and energy-consuming reactions. In: HOBSON, P. N.; STEWART, C. S.. *The rumen microbial ecosystem*. 2. ed. *Suffolk: Blackie Academic & Professional*, 1997. p. 246-328.

SALIBA, E. O. S. *Caracterização química e microscópica das ligninas dos resíduos agrícolas de milho e de soja expostas à degradação ruminal e seu efeito sobre a digestibilidade dos carboidratos estruturais*. Belo Horizonte: Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, 1998, 251p. Tese (Doutorado em Ciência Animal).

SALIBA, E. O. S.; RODRIGUEZ, N. M.; PILO-VELOSO, D. Purified lignin extruded from *Eucalyptus grandis* (PELI), used as an external marker in digestibility trials in various animal species. In: WORLD CONFERENCE ON ANIMAL PRODUCTION, 9., Porto Alegre: WAAP/ALPA/SBZ/UFRGS; Anais... 2003.

SALIBA, E. O. S. Uso de Indicadores: Passado, presente e futuro. In: I TELECONFERÊNCIA SOBRE INDICADORES EM NUTRIÇÃO ANIMAL, 2005, Belo Horizonte: Anais... Belo Horizonte – MG: Escola de Veterinária da UFMG, 2005. p. 04-22.

SALIBA, E. O. S.; BARBOSA, G. S. S. C.; RODRIGUEZ, N. M. et al. Utilization of nanotechnology to the development of a marker of fecal output in dairy cattle. In: 8th INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE NUTRITION OF HERBIVORES (ISNH8), 2011, Aberystwyth, Wales, UK. Abstract published in *Advances in Animal Biosciences*, 2011.

SALIBA, E. O. S.; GONCALVES, N. C.; BARBOSA, G. S. S. C. et al. Evaluation of the infrared spectroscopy method for the quantification of nanolipe marker in faces of dairy cattle. In: 4TH EAAP INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ENERGY AND PROTEIN METABOLISM AND NUTRITION, 2013, Sacramento. EAAP International symposium on energy and protein metabolism and nutrition, 2013.

SANTINI, F. J.; LUS, C. D.; POTCHOIBA, M. J.; et al. Dietary fiber and milk yield, mastication, ingestion, and rate of passage in goats fed alfafa hay. *J. Dairy Sci.*; v. 75, p. 209–219, 1992.

SAS – *Statistical Analysis System for Windows*, 2001.

SERRANO, R. D. C. *Glicerina bruta e ureia de liberação lenta na alimentação de bovinos de corte*. 2011. 63 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Paraná, Maringá-PR, 2011.

SILVA, A. G. M.; BORGES, I.; NEIVA, J. N. et al. Avaliação do LIPE como indicador externo de digestibilidade em ovinos recebendo dietas com castanha de caju integral 1. IN: ZOOTEC, João Pessoa: ABZ, Anais... 2008.

SILVA, A. G. M.; BORGES, I.; NEIVA, J. N. et al. Avaliação do LIPE como indicador externo de digestibilidade em ovinos recebendo dietas com torta de babaçu. IN: I CONGRESSO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, Fortaleza: AMVECE, Anais 2008b.

SILVA, F. A. *Técnicas para estimativa de consumo, digestibilidade e produção fecal com diferentes dietas para bovinos*. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte – MG, 2013.

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

SILVA, J. F. C.; LEAO, M. I. *Fundamentos de nutrição de ruminantes*. Piracicaba, SP, Livrocercos, 1979. 380p.

SNIFFEN, C. J., O'CONNOR, J. D., VAN SOEST, P. J., FOX, D. J.; RUSSEL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 70, n. 11, p. 3562-3577, Nov. 1992.

TITGEMEYER, E. C. Design and interpretation of nutrient digestion studies. *Journal Animal Science*, v. 75, p. 2235-2247, 1997.

TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society*, v.18, p.104-111, 1963.

THOMPSON, J. C.; HE, B. B. Characterization of crude glycerol from biodiesel production from multiple feedstock. *Applied Engineering in Agriculture*, Saint Joseph, v. 22, n. 2, p. 261-265, Apr. 2006.

TRABUE, S.; SCOGGIN, K.; TJANDRAKUSUMA, S. et al., Ruminal fermentation of propyleneglicol and glycerol. *Journal Agriculture Food Chemistry*, v.50, p.7043-7051, 2007.

VALADARES FILHO, S. C. Nutrição, avaliação de alimentos e tabelas de composição de alimentos para bovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, Viçosa: SBZ; Anais... p.267-337. 2000.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B. Analysis of forages and fibrous foods. Ithaca: Cornell University, 1985. 202p.

ZAVARIZE, K. C. *Utilização de glicerina proveniente da produção de biodiesel na dieta de frangos de corte*. 2012. 80 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.

ZAWADZKI, F.; SILVA, L.G.; STRACK, M.G. et al. Glicerol e óleos essenciais na dieta de bovinos não castrados precoces Purunã terminados em confinamento sobre o desempenho e ingestão de alimentos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47., 2010, Salvador. Anais... Salvador: Sociedade Brasileira de Zootecnia, [2010]. (CD-ROM).

ZEOULA, L. M.; PRADO, I. N.; DIAN, P. H. M. et al. Recuperação fecal de marcadores internos avaliados em ruminantes. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.4, p.1865- 874. 2002.

WANG, C.; LIU, Q.; YANG, W. Z.; HUO, W. J.; DONG, K. H.; HUANG, Y.X.; YANG, X. M.; HE, D. C. Effects of glycerol on lactation performance, energy balance and metabolites in early lactation Holstein dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, Amsterdam, v. 151, n. 1, p. 12-20, May 2008.

WARNER, A. C. I. Rate of passage of digesta through the gut of mammals and birds. *Nutr. Abstr.Rev.* v. 51, p. 789-820, 1981.

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