

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

**MILHO E GLICERINA BRUTA EM DIETAS DE VACAS LEITEIRAS EM
LACTAÇÃO E OVELHAS**

WILMA GONÇALVES DE FARIA

**Belo Horizonte
Escola de Veterinária da UFMG
2014**

WILMA GONÇALVES DE FARIA

**MILHO E GLICERINA BRUTA EM DIETAS DE VACAS LEITEIRAS EM
LACTAÇÃO E OVELHAS.**

Tese apresentada ao Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Zootecnia.

Área de Concentração: Nutrição e Alimentação Animal

Orientador: Prof. Dr. Helton Mattana Saturnino

Belo Horizonte
Escola de Veterinária da UFMG
2014

F224m Faria, Wilma Gonçalves de, 1981-
Milho e glicerina bruta em dietas de vacas leiteiras em lactação e ovelha / Wilma Gonçalves Faria. – 2014.

124p. : il.

Orientador: Helton Marttana Saturnino
Dissertação (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária.
Inclui bibliografia

1. Bovino leiteiro – Alimentação e rações – Teses. 2. Ovino – Alimentação e rações – Teses.
3. Milho como ração – Teses. 4. Dieta em veterinária – Teses. I Saturnino, Helton Mattana. II.
Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 636.214 085

Tese defendida e aprovada em 24 de fevereiro de 2014 pela comissão examinadora constituída por:

Prof. Lúcio Carlos Gonçalves
(Presidente da banca)

Dr. Fernando César Ferraz Lopes

Dr. Thierry Ribeiro Tomich

Prof. Ronaldo Braga Reis

Prof. Ricardo Reis e Silva

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, “in memória” e meu irmão, pelo apoio incondicional em todas as minhas decisões na vida.

“As nuvens mudam sempre de posição, mas são sempre nuvens no céu. Assim devemos ser todo dia, mutantes, porém leais com o que pensamos e sonhamos; lembre-se, tudo se desmancha no ar, menos os pensamentos”. (Paulo Beleki)

AGRADECIMENTOS

À minha querida família que sempre me apoiou e vibrou com as minhas conquistas.

Ao meu irmão Dr. Wilson, pelos conselhos e amizade em todos os momentos.

Ao Renato Ricardo, pelo amor, companheirismo e compreensão.

Ao professor Helton pelo exemplo, paciência e por todos os conselhos e ensinamentos muito obrigado.

Ao professor Lúcio pela confiança e paciência muito obrigado.

Aos pesquisadores da Embrapa Fernando César e Thierry pelo apoio nas correções da tese.

Aos professores do departamento de zootecnia da EV-UFMG, principalmente Ronaldo e Ricardo pelos ensinamentos e exemplo de profissionais.

As colegas : Juliana Laguna, Juliana Colodo, Thassia e Cristina pelo apoio durante a execução do experimento.

Aos estagiarios: Ana Carolina, Pedro, Rayane, Thamirys, Julia e Raimundo pelo apoio durante a execução do experimento.

Aos Funcionarios da Fazenda Experimental Prof. Hélio Barbosa: principalmente os funcionários do curral Ailton, Lucio e o Sr. Geraldo pelo apoio durante a execução do experimento.

A todos os amigos que torceram por mim.

Aos colegas do Laboratório de nutrição animal da EV-UFMG (Toninho, Marcos e Kelly)

A FAPEMIG pela bolsa concedida e financiamento do projeto.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse sonho!

Sumário

RESUMO.....	18
ABSTRACT.....	20
CAPÍTULO I	
1.1. INTRODUÇÃO GERAL.....	22
1.2. Referências bibliográficas.....	23
CAPÍTULO II	
REVISÃO DE LITERATURA.....	24
2.1. Utilização de carboidratos na alimentação animal	24
2.1.1. Carboidratos.....	24
2.1.2 Amido	24
2.1.2.1 Caracterização da molécula de amido	24
2.2. Milho.....	25
2.2.1 Estrutura anatômica e composição química do grão de milho	26
2.3 Processamento dos alimentos	28
2.3.1 Processamento dos grãos de cereais	28
2.3.2 Processamentos térmicos	28
2.3.2.1 Expansão	29
2.4 Consumos e digestibilidade aparente.....	29
2.4.1 Consumo	29
2.4.2 Digestibilidade aparente	30
2.5 Ambiente ruminal	31
2.6 Metabolismo ruminal.....	31
2.6.1.1 Carboidratos fibrosos	32
2.6.1.2 Carboidratos não fibrosos	33
2.6.2 Vias de fermentação dos ácidos graxos de cadeia curta	34
2.6.3 Processamento versus digestão	36
2.7 Metabolismo ruminal de proteínas	37
2.7.1. Eficiência microbiana	38
2.8 Glicerina	38
2.8.1 Glicerol na alimentação animal	39
2.8.1.1 Metabolismo do glicerol no rumen.....	40
2.8.1.2 Metabolismo de glicerol no fígado	41
2.8.2 Utilização de glicerol em dietas de ruminantes	41
2.9 Metabolismo da glândula mámaria.....	43

2.10 Partição da energia dos alimentos.....	44
2.10.1 Partição da energia dos alimentos, calorimetria e respirometria.....	44
2.10.2 Calorimetria indireta.....	49
2.10.3 Eficiência de utilização da energia.....	50
2.10.4 Produção do metano entérico dos ruminantes.....	52
2.10.4.1 Formação do metano entérico e seu papel no ecossistema ruminal.....	52
2.10.4.2 Perdas energéticas via metano entérico.....	53
2.11 Referências bibliográficas.....	55
CAPÍTULO III	
RESUMO.....	66
3.1 Introdução.....	68
3.2 Material e métodos.....	68
3.3 Resultados e discussão.....	76
3.4 Conclusões.....	93
3.5 Referências bibliográficas.....	93
CAPÍTULO IV	
RESUMO.....	97
4.1 Introdução.....	98
4.2 Material e métodos.....	99
4.3 Resultados e discussão.....	107
4.4 Conclusões.....	120
4.5 Referências bibliográficas.....	121
CAPÍTULO V	
Considerações finais e implicações.....	125

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Composições químicas médias de grãos de milho em porcentagem da matéria seca.....	26
---	----

CAPÍTULO 3

Tabela 1 – Composição físico-química da glicerina bruta utilizada.....	74
--	----

Tabela 2. Composição centesimal em quilogramas (kg) dos concentrados de milho e milho	
---	--

expandido com e sem adição de glicerina bruta.....74

Tabela 3. Composição bromatológica em porcentagem da matéria seca (%MS) e digestibilidade in vitro da matéria seca (DIVMS) da silagem de milho e dos concentrados experimentais contendo milho e milho expandido, sem e com adição de glicerina bruta.....76

Tabela 4. Composição bromatológica em porcentagem da matéria seca (%MS) e digestibilidade in vitro da matéria seca (DIVMS) das dietas experimentais utilizados na alimentação de vacas leiteiras contendo milho ou milho expandido, sem e com adição de glicerina bruta.....77

Tabela 5. Valores médios de consumo de matéria seca (CMS), de extrato etéreo (CEE), de proteína bruta (CPB) e de fibra em detergente neutro (CFDN) em quilo por dia (kg/dia), em porcentagem de peso vivo (%PV) e em porcentagem de peso metabólico (%PM) para vacas leiteiras alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido sem e com adição de glicerina bruta.....79

Tabela 6. Valores observados e exigências de matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e nutrientes digestíveis totais (NDT) em quilo por dia (kg/dia) segundo o NRC (2001), de vacas lactantes com 550 kg de peso corporal, com 24 semanas de lactação, produzindo 25 kg/dia com 3,5% de gordura.....80

Tabela 7. Valores médios de produção em quilogramas por dia (kg/d) e da composição de leite em porcentagem do leite produzido (%) de vacas leiteiras alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido sem e com adição glicerina bruta.....81

Tabela 8. Valores médios de pH ruminal de vacas leiteiras alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido sem e com glicerina bruta.....83

Tabela 9. Valores médios das concentrações de ácidos graxos voláteis em milimol por litro (mMol/L) no líquido ruminal de vacas leiteiras alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido sem e com adição de glicerina bruta.....85

Tabela 10. Valores médios das concentrações de glicose em miligrama por decilitro (mg/dL) de vacas leiteiras alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido sem e com adição de glicerina bruta.....87

Tabela 11. Valores médios das concentrações de nitrogênio no plasma em miligrama por

decilitro (mg/dL) de vacas leiteiras alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido sem e com adição de glicerina bruta.....88

Tabela 12. Valores médios das concentrações de nitrogênio amoniacal no líquido ruminal em miligrama por decilitro (mg/dL) de vacas leiteiras alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou expandido sem e com adição por glicerina bruta.....89

Tabela 13. Valores médios dos volumes urinários em litros por dia (L/dia), das concentrações de ureia e nitrogênio urinários em grama por dia (g/dia), creatinina, ácido úrico e alantoina em milimol por dia (mmol/dia) de vacas leiteiras alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido sem e com adição de glicerina bruta.....92

CAPÍTULO 4

Tabela 1. Composição bromatológica da silagem de milho e dos concentrados experimentais em porcentagem da matéria seca (%MS) contendo milho e milho expandido, sem e com adição de glicerina bruta.....101

Tabela 2. Composição bromatológica das dietas experimentais em porcentagem da matéria seca (%MS) utilizados na alimentação de vacas leiteiras contendo milho ou milho expandido, sem e com adição de glicerina bruta.....102

Tabela 3. Consumos de matéria seca (CMS) em Kg/dia, em gramas/kg de PV (CMSPV), em gramas/kg^{0,75} (CMSPM), consumo de extrato etéreo (CEE) em Kg/dia, consumo de proteína bruta (CPB) em Kg/dia, consumo de fibra em detergente neutro (CFDN) em Kg/dia, em gramas/kg de PV (CFDNPV), em gramas/kg^{0,75} (CFDNPM) e peso vivo em Kg de ovelhas alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido, sem e com adição de glicerina bruta..... 107

Tabela 4. Nitrogênio ingerido (NI) em gramas por dia (g/dia), perda fecal de nitrogênio (PF) em gramas por dia (g/dia), e perda urinária de nitrogênio (PU) em gramas por dia (g/dia), nitrogênio retido (NR) em gramas por dia (g/dia), balanços de nitrogênio em porcentagem (%), eficiências de uso do nitrogênio retido (EUN) em porcentagem (%) em ovelhas alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido, sem e com adição de glicerina bruta..... 109

Tabela 5. Consumos de energia bruta (CEB) em Kcal/kgPM, energia digestível (CED) em Kcal/kgPM, energia metabolizável (CEM) em Kcal/kgPM e em Kcal/dia, energia líquida (CEL) em Kcal/kgPM e perdas de energia fecal em kcal/kgPM, energia urinária em kcal/kgPM, incremento calórico (IC) em kcal/kgPM e energia retida em kcal/kgPM de ovelhas

alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido sem e com adição de glicerina bruta..... 111

Tabela 6. Perdas de energia nas fezes em porcentagem da energia bruta (%EB), na urina em porcentagem da energia bruta (%EB), como metano em porcentagem da energia bruta (%EB), e incremento calórico em porcentagem da energia bruta (%EB) de ovelhas alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido, sem e com adição de glicerina bruta.....114

Tabela 7. Medias da metabolizabilidade da energia bruta (qm) (kcal/kcal), eficiência de conversão da energia metabolizável em energia líquida (Km) em porcentagem (%) e a energia líquida em porcentagem de energia bruta (%EB) de ovelhas alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido, sem e com adição de glicerina bruta.....116

Tabela 8. Consumos de oxigênio (L/PM), produções de dióxido de carbono (CO₂) (L/PM), produções de metano (L/PM), produção de calor (PC) (kcal/PM) e quociente respiratório (QR) (L/L) de ovelhas alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido, sem e com adição de glicerina bruta..... 118

Tabela 9. Valores médios de produção de metano em litros por dia (L/d), em gramas por dia por PM (g/PM), em gramas por Kg de matéria seca ingerida (g/Kg MS), em gramas por kg de matéria seca digestível ingerida (g/kg MSd), em gramas por kg de FDN ingerido (g/kg FDN) e gramas por kg de FDN digestível ingerido (g/kg FDNd) de ovelhas alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido, sem e com adição de glicerina bruta..... 120

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 3

Figura 1. Valores de pH no líquido ruminal em diferentes horários em relação à primeira oferta de alimento, para vacas leiteiras alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido sem e com adição de glicerina bruta..... 84

RESUMO

FARIA, W.G. Milho e glicerina bruta em dietas de vacas leiteiras em lactação e ovelhas. 2014. 125f. Tese (Doutorado em Zootecnia). Escola de Veterinária- Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

Objetivou-se avaliar o uso da glicerina bruta e do milho expandido em substituição ao milho moído sobre o consumo da matéria seca, o ambiente ruminal, a produção e a composição do leite, metabolismo de nitrogênio e síntese de proteína microbiana. Vacas multíparas da raça Holandês (n=12) foram distribuídas num arranjo fatorial 2 x 2 (dois tipos de processamento do milho x dois níveis de glicerina) (quadrado latino com três repetições). Os quatro tratamentos foram (MM - milho moído, ME - milho expandido, MMG - milho moído + glicerina e MEG - milho expandido + glicerina). Para os valores de CMS, em gramas por quilograma de peso metabólico, (MM =197,0 g/PM/dia, ME= 190 g/PM/dia, MMG=210 g/PM/dia e MEG=190 g/PM/dia), não se observou diferença significativa ($p>0,05$) entre os tratamentos. Também não foram verificadas diferenças significativas quanto a produção de leite (MM =22,69 L/dia, ME= 24,34 L/dia, MMG=24,31 L/dia, e MEG=24,65 L/dia), teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais no leite ($p>0,05$), mas os valores de uréia no leite (MM=19,95 mg/dL, ME=16,91 mg/dL, MMG=15,52 mg/dL, e MEG=14,64 mg/dL) foram menores nos tratamentos com adição de glicerina ($p<0,05$). A produção de ácidos graxos de cadeia curta variaram no intervalo estudado, as concentrações de acetato, de propionato, de butirato não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$). Não foram observadas diferenças significativas ($p>0,05$) nas concentrações da glicose plasmática. A concentração de nitrogênio uréico no plasma, nitrogênio amoniacal e de nitrogênio ureico na urina, não diferiu significativamente ($P>0,05$). As concentrações de derivados de purina (MM= 174 mMol/dia, ME=187,2 mMol/dia, MMG=190,08 mMol/dia, MEG= 169,1 mMol/dia), as concentrações de purina absorvidas (MM= 176,24 mMol/dia, ME= 195,96 mMol/dia, MMG=197,97 mMol/dia, MEG= 170,06 mMol/dia) e as concentrações de nitrogênio microbiano (MM= 110 mMol/dia, ME=123,33 mMol/dia, MMG= 124,59 mMol/dia, MEG=107,03 mMol/dia), não apresentaram diferença significativa ($P>0,05$). A substituição do milho moído por milho expandido ou por 5%MS de glicerina é possível, sem grandes alterações nas variáveis estudadas.

Ovelhas multíparas da raça Santa Inês (n=8) foram distribuídas num arranjo fatorial 2 x 2 (dois tipos de processamento do milho x dois níveis de glicerina) (quadrado latino com três repetições). Os quatro tratamentos foram (MM - milho moído, ME - milho expandido, MMG - milho moído + glicerina e MEG - milho expandido + glicerina). Não se observou diferença significativa de CMS (MM= 1,49 kg/dia, ME= 1,45 kg/dia, MMG= 1,49 kg/dia, MEG= 1,35 kg/dia), PB (MM=0,24 kg/dia, ME=0,25 kg/dia, MMG=0,29 kg/dia, MEG=0,23 kg/dia), de FDN e de FDA ($p>0,05$). As retenções de nitrogênio e os balanços de nitrogênio dos tratamentos foram positivos, e variaram de

24,5 a 35 g/dia, e de 42 a 64% respectivamente não houve diferença significativa ($p>0,05$). Os consumos de energia bruta, de energia digestível e energia metabolizável não diferiram significativamente ($p>0,05$). O consumo de energia líquida também não diferiu significativamente ($P>0,05$) (MM=84,56 kcal/kgPM, ME=104,04 kcal/kgPM, MMG=110,89 kcal/kgPM, MEG=126,26 kcal/kgPM). As perdas de energia nas fezes, na urina, na forma de metano (MM=30,40 kcal/kgPM, ME=20,29 kcal/kgPM, MMG=18 kcal/kgPM, MEG=25,26 kcal/kg PM), na forma de incremento calórico (MM=35,3 kcal/kg PM, ME=33,12 kcal/kg PM, MMG=32,81 kcal/kg PM, MEG=33,95 kcal/kg PM) não diferiram significativamente ($p>0,05$). A metabolizabilidade (MM=0,37 kcal/kcal, ME=0,40 kcal/kcal, MMG=0,42 kcal/kcal, MEG=0,45 kcal/kcal) e a eficiência em conversão de energia metabolizável em energia líquida (MM=70%, ME=75%, MMG=77%, MEG=76%) não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$) entre os tratamentos. O consumo de oxigênio e as produções de CO₂ não diferiram significativamente ($p>0,05$). A produção de metano apresentou diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos quando avaliada a produção L/PM (MM=1,73 L/PM, ME=1,4 L/kg PM, MMG=1,93 L/PM, MEG= 1,90 L/PM) e g/PM (MM= 1,22 g/PM, ME=1,0 g/PM, MMG=1,37 g/PM, MEG=1,35 g/PM). Sendo que os tratamentos com glicerina apresentaram as maiores produções de metano por L/PM e g/PM.

Palavras-chave: leite, metabolismo, metano, produção, respirometria

ABSTRACT

FARIA, W.G. Corn and gross glicerina in diets of lactating dairy cows and sheep. 2014. 125f. Thesis (doctorate in Zootecnia). Veterinary School, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte.

This study aimed to evaluate the use of crude glycerin and corn expanded replacing ground corn on dry matter intake, ruminal environment, production and milk composition, nitrogen metabolism and synthesis of microbial protein. Multiparous Holstein cows (n = 12) were allotted in a 2 x 2 factorial arrangement (two types of corn processing x two levels of glycerin) (Latin square design with three replications). The four treatments were (MM - ground corn, ME - expanded corn, MMG - ground corn + glycerin and MEG - expanded corn + glycerin). For values of CMS in grams per kilogram of metabolic body weight, (MW = 197.0 g/PM/day, ME = 190 g/PM/day, MMG = 210 g/PM/day and MEG = 190 g/PM/day), no difference (p>0.05) was observed. No differences were observed when milk production (MM = 22.69 L/day, ME = 24.34 L/day, MMG = 24.31 L/day, and MEG = 24.65 L/day), levels fat, protein, lactose, total solids in milk (p>0.05), but the amounts of urea in milk (MM = 19.95 mg/dL, ME = 16.91 mg/dL, MMG = 15.52 mg/dL and MEG = 14.64 mg/dL) were lower with addition of glycerin (p<0.05). The production of short chain fatty acids varied in the range studied, the concentrations of acetate, propionate, butyrate did not differ (p>0.05). No differences (p> 0.05) were observed in the concentrations of plasma glucose. The concentration of plasma urea nitrogen, ammonia nitrogen and urea nitrogen excretion, showed no significant response (p>0.05). The concentrations of purine derivatives (MM= 174 mMol/day, ME = 187.2 mMol/day, MMG= 190.08 mMol/day MEG= 169.1 mMol/day), the concentrations of purine aborvidas (MM= 176.24 mMol/day, ME= 195.96 mMol/day, MMG= 197.97 mMol/day MEG = 170.06 mMol/day) and the concentrations of microbial nitrogen (MM= 110 mMol/day, ME= 123.33 mMol/day, MMG= 124.59 mMol/day, MEG= 107.03 mMol/day), showed no significant response (p>0.05). The replacement of ground corn or maize expanded by 5% glycerin MS is possible, without major changes in the variables. Multiparous Santa Inês sheep (n = 8) were distributed in a 2 x 2 factorial arrangement (two types of corn processing x two levels of glycerin) (Latin square design with three replications). The four treatments were (MM - ground corn, ME - expanded corn, MMG - ground corn + glycerin and MEG - expanded corn + glycerin). No difference CMS (MM of 1.49 kg/day, ME= 1.45 kg/day MMG= 1.49 kg/day MEG= 1.35 kg/day), PB (MM= 0.24 kg/day ME= 0.25 kg/day, MMG= 0.29 kg/day MEG= 0.23 kg/day), NDF and ADF (p>0.05). The nitrogen retention and nitrogen balances of the treatments were positive and ranged from 24.5 to 35 g/day and 42-64% respectively there was no difference (p>0.05). The intakes of gross energy, digestible energy and metabolizable energy did not differ (p>0.05). The net energy consumption did not differ (p>0.05) (MM= 84.56 kcal/kgPM, ME= 104.04 kcal/kgPM, MMG= 110.89 kcal/kgPM, MEG= 126.26 kcal/kgPM). The energy losses in feces, urine, in the form of methane (MM= 30.40

kcal/kgPM, ME= 20.29 kcal/kgPM, MMG= 18 kcal/kgPM, MEG= 25.26 kcal/kgPM) in the form of heat increment (MM= 35.3 kcal/kgPM, ME= 33.12 kcal/kgPM, MMG = 32.81 kcal/kgPM, MEG= 33.95 kcal/kgPM) did not differ ($p>0.05$). The metabolizable (MM= 0.37 kcal/kcal, ME= 0.40 kcal/kcal, MMG= 0.42 kcal/kcal, MEG= 0.45 kcal/kcal) and the efficiency of conversion of metabolizable energy for net energy (MM= 70%, ME= 75%, MMG= 77%, MEG= 76%) showed no difference ($p>0.05$) between treatments. The oxygen consumption, production of CO₂ did not differ ($p>0.05$). Methane production was different ($p<0.05$) (MM= 1.73 L/PM, ME= 1.4 L/kgPM, MMG= 1.93 L/PM, MEG= 1.90 L/PM) with addition of glycerin were the highest yields. Methane production showed a significant difference ($p <0.05$) between treatments when assessed production L/PM (MM = 1.73 L/PM, ME = 1.4 L/kgPM, MMG = 1.93 L/PM, MEG = 1.90 L/PM) g/PM (MM = 1.22 g/PM ME = 1.0 g/PM, MMG = 1.37 g/PM, MEG = 1.35 g/PM). The treatments with glycerol showed the highest production of methane by L /PM e g/PM.

Keywords: caloric increment, fermentation, methane, net energy, production, respirometry

CAPITULO I

1.1 INTRODUÇÃO GERAL

A intensificação dos processos produtivos na pecuária nacional promoveu aumento das necessidades quantitativas e qualitativas de alimentos para os animais. A produtividade dos ruminantes depende da composição de dietas que possam ser digeridas, absorvidas e utilizadas pelos tecidos da melhor forma possível. O consumo representa a maior parte das variações na qualidade da dieta, pois dele vai depender a quantidade total de nutrientes que o animal recebe, enquanto que a quantidade de nutrientes absorvidos dependerá da interação entre o consumo e a digestibilidade. Entretanto, os alimentos devem ser avaliados não só quanto a sua capacidade de promoverem a absorção de nutrientes, mas também quanto à eficiência com que a energia química presente nesses nutrientes é retida no corpo do animal ou produtos úteis, como o leite e a carne.

Os grãos de cereais são compostos em grande parte por amido e este consiste na fonte primária de energia em dietas para vacas em lactação. Melhorar a utilização do amido (com processamentos dos grãos) ou o uso de outras fontes de energia é fundamental para aumentar a eficiência na produção de leite. Pois o maior custo da atividade pecuária advem da alimentação dos animais, principalmente quando se utiliza o milho como ingrediente energético, o qual, apesar da elevada qualidade nutricional, geralmente apresenta custo elevado para aquisição. Portanto, a utilização de fontes alimentares alternativas, como é o caso do glicerol pode reduzir o custo de produção.

A glicerina bruta de origem vegetal, é um co-produto da produção do biodiesel que apresenta valor similar ao do milho. O uso de glicerina em substituição ao milho na ração concentrada de ruminantes tem tomado lugar de destaque nas pesquisas realizadas na área da nutrição animal, em virtude do seu maior aporte de glicose, via gliconeogênese, o que pode resultar em melhoria do aporte energético aos animais e em maior produção de leite nos casos onde o potencial produtivo é limitado pela quantidade de energia disponível para o animal. A produção anual de biodiesel no Brasil em 2013 segundo a agência nacional do petróleo (ANP) foi de 2.917.488 m³ com tendência a aumentos nos próximos anos disponibilizando maior quantidade de glicerina bruta no mercado.

Porém o uso de glicerol ou de milho processado (expandido) pode alterar a diversidade da população microbiana do rumen devido às condições ruminais. Valores de pH ruminal

inferiores a 6,5 tendem a reduzir a população de microrganismos celulolíticos podendo afetar a digestibilidade da fibra dos volumosos.

Nos últimos anos tem ocorrido aumento das discussões sobre o impacto ambiental das atividades pecuárias e agrícolas, principalmente relativas ao aquecimento global. O inventário do potencial de emissão de metano pelos diferentes sistemas agropecuários, bem como a avaliação de estratégias mitigatórias, devem ser realizados, levando-se em consideração a dinâmica do fluxo de carbono em todo o sistema de produção. As instituições de pesquisa nacionais têm papel fundamental no desenvolvimento de inventários sobre a emissão de gases de efeito estufa no Brasil, possibilitando o questionamento dos dados apresentados pelas organizações internacionais e o desenvolvimento de soluções sustentáveis para os sistemas de produção instalados no país.

Objetivou-se com este trabalho avaliar a glicerina bruta em substituição do milho ou ao milho expandido em dieta de vacas leiteiras e suas implicações sobre o consumo, os parâmetros da fermentação ruminal, a digestibilidade dos nutrientes, a produção e a composição do leite, a produção de calor e produção de metano, além dos efeitos sobre o metabolismo de energia e de nitrogênio. Para tanto, estão apresentados aqui os capítulos 2, 3, 4 e 5 cujos conteúdos vão estudar respectivamente a revisão de literatura, consumo, ambiente ruminal, digestibilidade, produção e composição do leite, estimativas do volume urinário, da produção microbiana e da excreção de ureia de vacas leiteiras e o consumo, metabolismo de nitrogênio e de energia, a produção de calor e de metano de ovelhas e as considerações finais.

1.2 Referência bibliográfica

Agencia nacional do petróleo. Em <http://www.anp.gov.br/?dw=8740> acessado em 03/03/2014

CAPÍTULO II

REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Utilização de carboidratos na alimentação animal

2.1.1. Carboidratos

Os carboidratos compreendem 70 a 80% da dieta dos ruminantes e são as principais fonte de energia e precursores para síntese de compostos do leite. Os alimentos apresentam diferentes tipos de carboidratos complexos, que comumente são divididos em carboidratos fibrosos e não fibrosos. Os primeiros são representados em conjunto pela celulose e hemiceluloses e necessitam ser hidrolisados por enzimas microbianas, devido o tipo de ligação (β -1 \rightarrow 4) e estão entre as moléculas que não são clivadas pelas enzimas do animal.

Já os segundos englobam o amido, açúcares solúveis que são assim classificados por estarem presentes no conteúdo celular das células vegetais. São fonte de energia prontamente disponível ou de reserva para a planta (Chesson e Forsberg, 1997).

2.1.2 Amido

2.1.2.1 Caracterização da molécula de amido

O amido é um polissacarídeo heterogêneo composto de carbono, hidrogênio e oxigênio em uma relação 6:10:5 ($C_6H_{10}O_5$)_n, formado por dois polímeros de glicose, a amilose e a amilopectina, unidas por pontes de hidrogênio e são encontrados no endosperma. Atualmente de 60 a 70% da energia calórica consumida pela população mundial provém do amido (Weber et al. 2009).

A amilose e a amilopectina diferenciam-se pelo tamanho, estrutura e propriedades químicas das moléculas. De modo geral, os cereais apresentam de 25 a 30% de amilose e 70 a 75% de amilopectina.

A amilose é uma estrutura longa relativamente linear de unidades de D-glicose unidas com 99% das ligações α (1 \rightarrow 4) e 1% de β (1 \rightarrow 6). Estas estão associadas as ramificações que podem corresponder por 3 a 11 cadeias dispostas paralelamente e cada cadeia pode conter de 200 a 700 resíduos de glicose (Tester et al., 2004). A amilose está presente em quantidade controlada geneticamente, aumentando com a maturidade da planta, sendo que a proporção de amilose no grânulo de amido pode variar de 14 a 34% (Kotarski et al., 1992).

Já a amilopectina é uma molécula muito ramificada, parte insolúvel do amido, de cadeias individuais mais curtas, mas que em conjunto resultam em maior peso molecular ($1 \times 10^{7-9}$ x $1 \times 10^{5-6}$) comparado a amilose (Buléon et al., 1998). Cerca de 95% dos resíduos de glicose estão ligados por ligações α (1 \rightarrow 4) e 5% por β (1 \rightarrow 6). A maior ramificação garante mais pontos de clivagem pelas enzimas e assim resulta em maior taxa e extensão de degradação que a amilose.

Esta conformação favorece a maior compactação das cadeias e maior cristalinidade, o que resulta em maior resistência a absorção de água e a degradação pelas α -amilases microbianas. Assim, quanto menor a proporção de dupla hélice mais rápida a hidrólise das amilopectinas (Singh et al., 2010). A amilopectina corresponde a cerca de 70 a 80% da maioria do amido contido nos grãos de milho.

As diferenças na proporção de amilose:amilopectina e mesmo as diferenças estruturais das amilopectinas justificam em parte as diferenças na degradabilidade no grânulo de amido entre diferentes grãos de cereais e tubérculos. A menor digestibilidade das variedades de alta amilose pode estar relacionada com a capacidade da amilose de limitar a incubação e/ou devido à orientação das moléculas de amilose em direção ao interior dos cristais de amilopectina, causando um aumento nas ligações de hidrogênio, o que limitaria a absorção de água e a hidrólise enzimática. A outra teoria que explica a menor digestibilidade da amilose reside no fato de que a mesma está localizada principalmente na região amorfa onde é complexada com lipídeos (Rooney e Pflugfelder, 1986). Entretanto outros fatores como teor de lipídios, de fosforo, de corpos proteicos, de compostos fenólicos, do tamanho dos grânulos interferem na degradabilidade do amido e a composição proteica do grão e o arranjo ultra-estrutural da matriz proteica nos endospermas vítreo e farináceo são os principais fatores determinantes (Chandrashekar e Mazhar, 1999).

2.2. Milho

O milho (*Zea mays*) é o principal cereal que compõe a dieta dos animais de produção, na alimentação de bovinos leiteiros, é utilizado como fonte de amido. Apresenta disponibilidade energética superior à dos carboidratos estruturais presentes nas dietas de ruminantes. A presença de amido é fundamental na exploração de animais de alta produção, que exigem maior quantidade de energia na dieta. Assim o milho apresenta-se como uma das plantas comerciais de maior importância na cadeia do setor produtivo, devido as suas características vegetativas, propriedades energéticas, difusão sobre grande extensão do território brasileiro, além de suas diversas formas de utilização, indo desde alimentação

animal até processos e produtos industriais. Destacando-se no cenário internacional, se constituindo numa relevante *commodity*.

2.2.1 Estrutura anatômica e composição química do grão de milho

Os grãos do milho são, geralmente, amarelos ou brancos, podendo apresentar colorações variando desde o preto até o vermelho, pesando em torno de 250 a 300 mg, rico em energia, mas pobre em proteína (Tabela 1). Conhecido botanicamente como uma cariopse, o grão de milho é formado por quatro principais estruturas físicas: endosperma, gérmen, pericarpo (casca) e ponta, as quais diferem em composição química e também na organização dentro do grão.

Tabela 1. Composições químicas médias de grãos de milho em porcentagem da matéria seca.

Parâmetros	NRC (2001)	Valadares Filho <i>et al.</i> (2006)	Lima (2001)
Matéria seca (%)	88,1	87,6	87,7
Proteína bruta (% MS)	9,4	9,1	8,5
Extrato etéreo (% MS)	4,2	4,1	3,7
Fibra em detergente neutro (% MS)	9,5	14,0	-
Fibra em detergente ácido (% MS)	3,4	4,1	-
Cálcio (% MS)	0,04	0,03	0,04
Fosforo (% MS)	0,30	0,25	0,26
Lisina (% da proteína bruta)	2,84	2,65	2,83
Metionina (% da proteína bruta)	2,13	1,99	2,47

O pericarpo corresponde à superfície protetora que envolve o grão, servindo como uma barreira, impedindo inclusive a atividade de enzimas hidrolíticas, caso a mesma não seja rompida pela mastigação ou por processamentos, sendo seu teor de amido muito pequeno (Paes, 2006).

A ponta é a menor estrutura, 2% do grão, e é responsável pela conexão do grão ao sabugo, sendo a única área do grão não coberta pelo pericarpo. Sua composição é essencialmente de material lignocelulósico.

O endosperma representa aproximadamente 83% do peso seco do grão, consistindo principalmente de amido (88%), organizado na forma de grânulos. No endosperma estão também presentes as proteínas de reserva (8%) do tipo prolaminas, chamadas zeínas. Essas proteínas formam os corpos proteicos que compõem a matriz que envolve os grânulos de amido dentro das células no endosperma (Paes, 2006).

Com base na distribuição dos grânulos de amido e da matriz de proteína, o endosperma é classificado em dois tipos: farináceo e vítreo. As cultivares cujos grãos apresentam alta proporção de endosperma periférico e córneo são denominados vítreos, córneos ou pétreos, devido sua aparência vítrea. Os cultivares ricos em endosperma farináceo são denominados opacos, farináceos ou moles. O endosperma vítreo apresenta matriz proteica densa, com corpos proteicos estruturados, que circundam os grânulos de amido de formato poligonal, não permitindo espaços entre estas estruturas. Na porção farinácea os grânulos de amido são arredondados e estão dispersos, não havendo matriz proteica que circundam esta estrutura (Paes, 2006).

O milho e o sorgo possuem maior proporção de matriz proteica significativamente que os demais cereais. A matriz proteica é um arcabouço protéico amorfo com função estrutural no grão, encontrado densamente no endosperma vítreo dos grãos dos cereais com fortes interações com os grânulos de amido, explicando a baixa digestibilidade dos mesmos no ambiente ruminal (Van Soest, 1994). Essa matriz proteica é um dos principais fatores que afetam a utilização do amido pelos animais. A presença dessa matriz proteica ao redor do grânulo de amido dificulta a ação das enzimas digestivas (Kotarski et al., 1992).

No endosperma farináceo os grânulos de amido são menos organizados e com corpos proteicos mais frouxos o que facilita o ataque microbiano e enzimáticos. A redução de α zeínas reduz a formação dos corpos proteicos e assim há menor formação da matriz proteica. Já a ausência de β/γ zeínas reduz intensamente a presença de matriz proteica deixando o amido bastante disponível. Os grãos duros contêm de 80 a 100% de endosperma vítreo enquanto o dentado cerca de 80% de endosperma farináceo, por essa razão são mais rapidamente fermentado.

O grão inteiro, com o pericarpo intacto, é altamente resistente à digestão pelos ruminantes, por não permitir a adesão de bactérias (Beauchemin et al. 1994; McAllister et al. 1994), assim como por possuir uma matriz proteica intacta ao redor dos grânulos de amido. Visando aumentar a susceptibilidade da molécula de amido ao ataque enzimático no rumen e nos intestinos, várias formas de processamento de grãos vêm sendo estudadas.

2.3 Processamento dos alimentos

2.3.1 Processamento dos grãos de cereais

O desempenho animal está diretamente relacionado ao consumo de nutrientes, que, por sua vez, depende da natureza física e química dos alimentos, da digestibilidade da dieta e do processamento do alimento.

O processamento dos grãos promove alterações químicas e físicas nas moléculas do amido, por meio da ruptura da película externa do grão, o pericarpo, que constitui uma barreira física que dificulta o ataque microbiano e a ação das enzimas digestivas do animal (Kotarski et al., 1992). A ruptura facilita a digestão por parte das enzimas amilolíticas dos microrganismos e/ou pancreáticas, resultando em um significativo aumento da degradação do amido. O principal efeito do processamento dos grãos é a mudança no local da digestão do intestino delgado para o rumen. Quando a digestão do amido ocorre no rumen, aumenta a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e de proteína microbiana (Zinn et al., 2002). A utilização de fontes de amido de elevada degradabilidade ruminal é positiva não só por melhorar a capacidade fermentativa do rumen, como também por permitir economia no metabolismo energético do hospedeiro (Huntington, 1994).

O processamento dos grãos pode ser dividido em tratamentos físicos (descascamento, prensagem, moagem e laminação), e os térmicos (calor seco: tostagem, micronização e estalação; e calor úmido: cozimento, dilatação, floculação e peletização), os quais hidratam e incham as estruturas amorfas e cristalinas dos grãos de amido, que permite maior absorção de água, resultando em melhor digestão enzimática. Todavia, nem todos são acessíveis econômica e tecnologicamente ao produtor brasileiro (Nocek e Tamminga, 1991).

2.3.2 Processamentos térmicos

O processamento físico na presença de umidade e vapor quebra a matriz e corpos proteicos, que dificultam a digestão do amido, permitindo uma maior digestão enzimática (Nocek e Tamminga, 1991). O processamento mais eficiente é aquele que apresenta efeito térmico, com a presença de água e a expansão do material que maximiza a digestibilidade, principalmente dos grãos de milho, promovendo o rompimento da matriz proteica e/ou aumento da área de exposição que pode ser obtido por meio de diferentes métodos de processamento de grãos (Orskov, 1986; Theurer, 1986).

2.3.2.1 Expansão

A expansão é um típico processo de alta temperatura por curto tempo [*High Temperature, Short Time* (HTST)] baseada na exposição da massa alimentícia a alta temperatura e pressão, de 90 a 120°C e 5atm, devido a transferência da energia mecânica para energia térmica em um período de 15 a 20 segundos, aumentando a densidade e a porosidade do alimento (Fancher et al, 1996).

A expansão dos grãos de milho promove a solubilização parcial do amido, nos quais ocorre a ruptura do grânulo e a alteração irreversível na estrutura cristalina da molécula. A gelatinização fraciona a matriz proteica, rompendo a parede celular e quebrando as pontes de hidrogênio entre as moléculas de amilose e amilopectina, permitindo a entrada de água no grânulo, expandindo-o e expulsando parte da amilose. Isso torna o grânulo de amido mais susceptível à degradação microbiana.

Segundo Chesson e Forsberg (1997), a penetração de água e das enzimas é mais rápida nas regiões amorfas dos grânulos onde, provavelmente, ocorre o início da rápida mobilização de todo o grânulo de amido pelas enzimas amilolíticas.

A expansão apresenta dois pontos positivos quanto ao aproveitamento da proteína de origem vegetal pelos animais. Além de eliminar fatores antinutricionais termolábeis, provoca a ruptura de sua parede celular, liberando a proteína complexada ou enclausurada, responsável pelo baixo aproveitamento proteico. Entretanto, pode teoricamente provocar reação de Maillard e desnaturação proteica pelo excesso de calor, levando à perda da função biológica (Lehninger, 2006).

2.4 Consumos e digestibilidade aparente

2.4.1. Consumo

A capacidade dos animais de consumir alimentos em quantidades suficientes para alcançar suas exigências de manutenção e produção é um dos fatores mais importantes nos sistemas de produção. Os ruminantes possuem reconhecida capacidade seletiva de ingestão de alimentos que afetam em diferente intensidade o comportamento de animais confinados ou em regime de pastejo. Nos dois casos, a seleção pode ser dependente da forragem utilizada e manejo adotado, sendo que em regime de confinamento, as características como tamanho de partícula e a quantidade de sobras proporcionadas no cocho e a frequência de fornecimento são fatores relevantes. O controle da ingestão de matéria seca (IMS) está correlacionado

com a regulação da energia corporal, que mantém um balanço entre a entrada e a saída de energia do corpo.

A importância da determinação do consumo é dependente da digestibilidade da dieta ou do alimento ingerido. Para forragens com digestibilidade da matéria seca inferior a 66,7%, o fator enchimento exerce maior influência sobre o consumo; enquanto que para forragens muito digestíveis (acima de 66,7%) o mecanismo fisiológico passa a assumir o papel principal no controle da ingestão de alimento. Portanto, a demanda energética do animal define o consumo em dietas de alta densidade energética, ao passo que a capacidade física do trato gastrointestinal determina o consumo de dietas de baixo valor nutritivo e baixa densidade energética (Van Soest, 1994).

2.4.2 Digestibilidade aparente

Por definição “a digestibilidade aparente de um alimento é considerada a proporção do ingerido que não foi excretado nas fezes e que, portanto, se supõe ter sido absorvido” (McDonald et al., 1991). A digestibilidade é obtida pela diferença entre a quantidade ingerida e a quantidade excretada nas fezes, sendo obtida para frações de MS, MO, PB, EE, ENN, FDN, FDA, celulose, hemiceluloses, minerais e energia bruta, (% ou g/Kg). No entanto, no caso da porção fibrosa do alimento, os valores de digestibilidade aparente e verdadeira são iguais, uma vez que não há produção endógena desse composto no organismo (Berchielli, *et al.*, 2006). Os experimentos de digestibilidade fornecem uma noção do aproveitamento das diversas frações do alimento, indicando a proporção apta a ser utilizada pelo animal (Minson, 1990).

O coeficiente de digestibilidade indica a porção do alimento que está apta a ser utilizada pelo animal, sendo considerado um dos principais parâmetros a ser avaliado em volumosos (Minson, 1990).

A lignina é a principal fração da parede celular reconhecida por limitar o aproveitamento nutricional de forragens. Enquanto o teor de FDN das forragens está altamente correlacionado com o consumo voluntário, a fibra em detergente ácido e a lignina estão correlacionadas negativamente com a digestibilidade *in vitro* da fibra.

Por outro lado, silagens com valores de pH muito baixo ou seja com elevadas concentrações de ácidos totais podem limitar o consumo, possivelmente por efeito osmótico estimulando receptores osmóticos no rumen, levando a redução da atividade motora do retículo-rumen.

De fato, os fatores sugeridos como de maior impacto no consumo são os teores de fibra e as proporções das frações proteicas (McDonald et al., 1991).

A digestibilidade da silagem depende de características intrínsecas do alimento, mas também está sujeita aos efeitos da interação entre os alimentos da dieta (tipo e teores de carboidratos prontamente fermentáveis), da taxa de passagem, do consumo, da atividade microbiana, manejo alimentar e espécie animal (Valdés et al., 2000).

2.5 Ambiente ruminal

O rumen é o primeiro e principal sítio de transformação dos alimentos ingeridos. O sucesso evolutivo dos ruminantes está diretamente associado à fermentação ruminal. A manutenção de condições favoráveis à fermentação no ambiente ruminal é fundamental para a sustentação de ampla diversidade de microrganismos, máximo crescimento microbiano e fermentação ruminal. O constante suplemento de alimentos (fontes de energia e nitrogênio), a remoção de produtos da fermentação (AGCC, dióxido de carbono (CO₂) e metano (CH₄)) criam condições ideais para o desenvolvimento e crescimento de uma complexa população microbiana.

O pH pode variar de acordo com a natureza da dieta, porém normalmente se encontra entre 5,5 a 7,0, sendo que valores de pH abaixo de 6,0 podem comprometer a sobrevivência das bactérias fermentadoras de fibra e diminuir a síntese de proteína microbiana (Russell et al., 1981). O aumento de grãos na dieta e maior processamento dos alimentos resultam em maior produção de AGCC e menor pH ruminal.

2.6 Metabolismo ruminal

Em vacas leiteiras, o rumen, o fígado e a glândula mamária são os principais órgãos envolvidos no metabolismo dos carboidratos. Durante a fermentação ruminal, a população de micróbios fermentam os carboidratos para produzir energia, amônia, gases (metano e dióxido de carbono), calor e ácidos. O ácido acético, o ácido propiônico e o ácido butírico são ácidos graxos de cadeia curta e constituem a maioria (>95%) dos ácidos produzidos no rumen. Entretanto, a produção de dióxido de carbono e metano formados pelas bactérias ruminais e intestinais (*Methanobrevibacter* spp. e *Methanomicrobium mobile*) correspondem a uma perda energética de até 13% em relação à energia do alimento ingerido (Lana et al., 1998).

2.6.1.1 Carboidratos fibrosos

Os microorganismos que vivem no rumem permitem que as vacas obtenham energia utilizando os carboidratos fibrosos. As forragens são ricas nesses carboidratos representados pela celulose e hemiceluloses, os quais, juntamente com a lignina e as frações da proteína ligada à fibra/lignina constituem a parede celular (Mertens,1996, Forbes, 2007).

A celulose e a hemicelulose são fermentadas vagarosamente no rumen, ao contrario as fibras ficam retidas no rumen por um longo tempo. A porcentagem de lignina é maior em plantas maduras, em consequencia, a digestão da celulose e da hemicelulose em plantas maduras é menor.

A degradabilidade ruminal desses carboidratos fibrosos envolve a colonização da partícula e a interação entre diferentes microrganismos fibrolíticos. Após a hidrólise os mono-, di- e polissacarídeos são captados pelos microrganismos e fermentados a AGCC. Mas nem todos os açúcares liberados são completamente captados ou fermentados pelas bactérias celulolíticas, como é o caso do *F. succinogenes* que não fermenta xiloses. Assim, parte desses carboidratos e alguns produtos finais da fermentação tornam-se disponíveis a outros microrganismos presentes no consórcio, resultando em alimentação cruzadas. Esse processo evita o acúmulo de produtos da degradação enzimática (ex: celobiose, xilobiose, H₂), os quais exercem efeito inibitório sob suas respectivas enzimas microbianas.

Uma vez absorvido as hexoses e pentoses serão convertidas em piruvato que é o intermediário central do catabolismo de carboidratos pelas bactérias ruminais. A principal via de fermentação das hexoses é a via de glicolítica (Embden-Meyerhof-Parnas) com saldo de 2 ATP e 2 NADH+H⁺ por mol de glicose fermentado. A fermentação da glicose pelas vias alternativas ocorre para produção de Ribose-5P e NADPH em microrganismos que não fermentam hemicelulose ou pectina.

As taxas de fermentação são influenciadas pela idade da planta, condições ruminais e MSI. À medida que a planta envelhece, as interações da lignina com as hemiceluloses e celulose restringem suas fermentações. Contudo o grau de restrição varia entre os componentes da fibra e mostra maior impacto na fermentação da celulose presente na parede secundária da planta. As taxas de fermentação são reduzidas pela dificuldade das bactérias em estabelecerem a colonização e pelo difícil acesso das enzimas às camadas mais profundas da parede celular (Mertens, 1996).

A redução do tamanho da partícula pela picagem ou ruminância expõem os tecidos, rompe as estruturas rígidas entre os tecidos e aumenta a área de superfície para colonização microbiana, resultando em maior taxa e extensão da degradação da fibra (Tamminga e Williams, 1998).

2.6.1.2. Carboidratos não fibrosos

Carboidratos não fibrosos são rapidamente fermentados no rumen. Os carboidratos não fibrosos aumentam a densidade energética da dieta e determinam a quantidade de proteína bacteriana produzida no rumen. Contudo, os carboidratos não fibrosos não estimulam a ruminância e a produção de saliva, e em excesso, eles podem impedir a fermentação das fibras.

Os principais carboidratos não fibrosos são os açúcares, principalmente a sacarose (α 1 \rightarrow 4 frutose-glicose), o amido (α 1 \rightarrow 4 glicose-glicose) e as substâncias pécicas ou pectina (α e β 1 \rightarrow 4). A digestão do amido dá-se inicialmente no rumen e em menor proporção no intestino e ceco, sendo a digestão intestinal energeticamente mais eficiente que a digestão microbiana ruminal, por causa da digestão ácida do abomaso e ações de enzimas digestivas.

As proporções da digestão de amido no rumen, a taxa e a extensão da produção de AGCC, e a circulação do amido pós-ruminal são variáveis influenciadas também pelo “status” fisiológico do animal, pelo tipo de grão, pelo genótipo da planta, pelas condições de germinação, pelos processamentos de grão envolvidos, pela composição da dieta e níveis de alimentação (Rodrigues, 2006).

O amido ao chegar ao rumen é hidrolizado por amilases do tipo α e β e também por isoamilases. As α -amilases hidrolisam ligações no interior das cadeias (endoglicosidases), liberando maltose como produto final. As β -amilases atuam no final da cadeia (exoglicosidases) liberando glicose. As isoamilases hidrolisam as ligações α -1,6 nos pontos de ramificação do polímero (Lehninger, 2006). Uma vez que o amido é hidrolizado, a glicose ou a maltose é absorvida pelos microrganismos. Após a glicose ser fosforilada para glicose-6-fosfato, ao longo desta rota, a glicose fosforilada é isomerizada e clivada formando duas trioses-fosfato. Cada gliceraldeído-3-fosfato é, então, desidrogenado e desfosforilado até formar piruvato a partir do fosfoenolpiruvato. O subsequente metabolismo dos AGCC se constitui na maior fonte de energia para os ruminantes, podendo representar até 80% dos requerimentos energéticos diários dos animais (Van Soest, 1994).

Os AGCC, produtos finais da fermentação ruminal, são absorvidos através da parede ruminal. A maioria do acetato e todo o propionato são transportados para o fígado, mas a maioria do butirato é convertido na parede ruminal em corpos cetônicos. As cetonas são importantes fontes de energia para a maioria dos tecidos do corpo. As cetonas no início da lactação são produzidas devido a mobilização de gordura pelo animal.

2.6.2 Vias de fermentação dos ácidos graxos de cadeia curta

O piruvato é o principal metabólico intermediário no rumen. A partir do piruvato várias rotas diferentes podem ser utilizadas até a formação dos produtos finais da fermentação, que são principalmente os AGCC, CO₂ e metano (Van Soest, 1994). O destino do piruvato na produção do AGCC irá depender inicialmente do carboidrato degradado, da bactéria fermentadora e das condições ruminais. Quando há excesso de H₂ no conteúdo ruminal ocorre acúmulo de NADH na célula, devido à inibição da desidrogenação do NADH. Isso direciona a fermentação do piruvato para AGCC mais reduzidos (propionato, succinato e lactado) em detrimento aos mais oxidados (acetato e butirato) como mecanismo de drenagem desses potenciais redutores. Nesse sentido a produção de metano pelas metanogênicas é importante para manter o balanço de NAD/NADH intracelular das bactérias ruminais, pois consome o H₂ do meio ruminal e permite a reoxidação do NADH pela NADH desidrogenase-ferrodoxina da membrana bacteriana (Kozloski, 2009). Assim garantindo a continuidade da fermentação ruminal.

O acetato é o principal AGCC produzido no rumen pelos microrganismos ruminais a partir de piruvato podendo representar até 75% dos AGCC produzidos nas dietas ricas em volumosos e mais de 50% nas dietas ricas em concentrados é a fonte mais importante de energia metabolizável para o ruminante. Ele é produzido principalmente por bactérias fibrolíticas e pectinolíticas que dominam o rumen em condições de pH ruminais próximos de 6,8 a 7,2. O acetato é o AGCC menos reduzido e sua formação é a mais rentável em termos de produção de ATP para a bactéria (Kozloski, 2009). A oxidação completa de uma molécula de glicose para acetato resulta na formação de dois acetatos e quatro moléculas de ATP. Além disso, é o principal substrato utilizado para a lipogênese que, no ruminante, ocorre no tecido adiposo. A glicose pode suprir somente quantidades desprezíveis de acetil-CoA para a lipogênese nos ruminantes devido a baixas concentrações da enzima ATP-citrato liase, ao contrário do que ocorre nos não ruminantes. Porém o CO₂ + H₂ ou o formato produzidos são convertidos em CH₄, o qual representa grande perda de energia para o animal.

Muitas espécies bacterianas produzem butirato, mas existem algumas bactérias ruminais como o *B. fibrisolvans* que é especialmente produtora de butirato, em que a síntese, nestas últimas, não são influenciadas pela pressão de H₂. A síntese do butirato pode ocorrer no rumen a partir da condensação de duas moléculas de acetil-CoA ou outras moléculas que resultem em acetil-CoA como o piruvato ou glutamato.

O propionato pode ser formado por duas rotas diferentes: a do succinato ou do acrilato. A principal é a via do succinato ou aleatória que corresponde por 90 a 100% da síntese de propionato em dietas ricas em volumosos. A segunda é a via do acrilato que apresenta importância em dietas ricas em amido, quando pode corresponder por 50% do propionato. A *M. esldenni* destaca-se ao utilizar essa via no metabolismo do lactato a propionato. A síntese de propionato é o principal carreador de H⁺ e elétrons do rumen. Muitas espécies bacterianas ruminais são hábeis em produzir succinato, mas somente poucas descarboxilam succinato via succinil-SCoA. As bactérias produzem propionato por esta rota metabólica a partir de lactato liberado no rumen por outras espécies.

As proporções dos produtos finais da fermentação no rumen podem mudar de acordo com a dieta que chega ao rumen, principalmente em resposta ao tipo e taxa de fermentação dos carboidratos predominantes (Dijkstra et al., 1994). As bactérias ruminais podem ser agrupadas em dois grandes grupos: as fermentadoras de carboidratos não fibrosos (CNF) e as fermentadoras de carboidratos fibrosos (CF). As espécies bacterianas são especializadas em produzir um tipo ou outro de produtos da fermentação dependendo da concentração de NADH e H₂ na célula. O aumento na concentração de H₂ na célula desfavorece a desidrogenação de NADH, que se acumula e dirige o metabolismo para a síntese de produtos mais reduzidos (propionato e butirato). Por outro lado, a retirada de H₂ do meio ruminal por bactérias metanogênicas que a utilizam para reduzir o CO₂ e produzir metano, dirige o metabolismo para maior rendimento de acetato e de ATP por mol de açúcar fermentado (Kozloski, 2009). As primeiras utilizam proteína verdadeira (aminoácidos (AA) e peptídeos- 66%) e amônia (34% (NH₃)), e são mais tolerantes a redução do pH ruminal (5,8). As últimas utilizam somente amônia como fonte de nitrogênio e são mais sensíveis à redução do pH (6,2- 7,2).

Em pH inferior a 5,8 cerca de 30% do carboidrato solúvel é convertido em propionato enquanto que em pH superior essa fração cai para apenas 10%. Nessas condições a maior parte (55%) é fermentada a ácido acético. Já o amido sofre uma inversão na fermentação entre propionato e butírico, com pouca alteração na produção de acético.

Via de regra, em dietas ricas em grãos de cereais, pela maior proporção de amido, há o favorecimento de bactérias amilolíticas que aumentam a produção de propionato (55:30:15), embora o acetato sempre prevaleça em maior proporção. Já o aumento de carboidratos solúveis pode estimular o crescimento de populações de protozoários e aumentar a produção de butirato em maior proporção que o propionato (Willians e Coleman, 1997).

O propionato é o maior precursor gliconeogênico em ruminantes. Já o acetato, é pouco metabolizado tanto pelo epitélio ruminal como pelo fígado.

2.6.3 Processamento versus digestão

Estudos com dietas para vacas de leite, compostas por 54,5% de concentrado, evidenciaram que o tamanho das partículas dos grãos altera a taxa e a extensão da digestão do amido. Quando os grãos de milho são finamente moídos, a digestão da matéria seca no trato digestivo total é maior (69,3%) do que quando os grãos são inteiros (59,1%) e ocorre a redução da eliminação de grãos nas fezes. San Emeterio et al. (2000) ao avaliarem o efeito do grau de moagem sobre o desempenho de vacas leiteiras, encontraram maiores produções de leite e de proteína do leite para as vacas alimentadas com milho finamente moído. Já Reis *et al.* (2001) não observaram efeito do grau de moagem para vacas leiteiras mantidas em pastagens. Huntington (1997), revisou trabalhos publicados entre os anos de 1986 e 1995 que apresentavam os coeficientes de digestibilidade do amido de diversos grãos submetidos a vários métodos de processamento. De acordo com sua revisão processamentos adequados dos grãos resultam em aumento da degradação ruminal do amido bem como da sua digestão no pós-rumen, conseqüentemente há aumento de digestão total do amido e melhor desempenho animal.

As cinéticas de degradações ruminais de grãos de milho ou sorgo inteiros, quebrados, moídos, extrusados ou autoclavados foram avaliadas por Moron et al. (2001) em vacas não lactantes das raças Holandes e Jersey. A redução do tamanho da partícula aumentou a fração solúvel, a fração potencialmente degradada e a degradabilidade efetiva da matéria seca do milho, que, de modo geral, foram superiores para o milho. O processamento térmico comprometeu a degradabilidade ruminal dos grãos, possivelmente devido à ocorrência de reações de Maillard ou exposição de aminoácidos hidrofóbicos à superfície, diminuindo a solubilidade (Russel e Hespell, 1981). A extrusão promove maior degradabilidade que a moagem fina devido à associação da ruptura da matriz proteica com a maior exposição dos grânulos de amido com a gelatinização.

2.7 Metabolismo ruminal de proteínas

Outro aspecto importante na nutrição de ruminantes diz respeito a degradação de compostos nitrogenados no rumen, síntese de proteína microbiana e retenção corporal de nitrogênio. Para maximizar a síntese de proteína microbiana é necessário teores adequados de proteína degradável no rumen e a sincronização ruminal da degradação de proteína, das concentrações de amônia e fermentação de carboidratos, pois quando o aporte de proteína e/ou amônia supera a taxa de captação pela microbiota ruminal há aumento na perda de nitrogênio urinário.

Desta forma, o balanço de nitrogênio pode ser indicativo do metabolismo proteico animal, importante na avaliação nutricional de alimentos, pois evidencia o aproveitamento das fontes nitrogenadas do alimento pelo organismo (Andrighetto et al., 1990). Já a elevada concentração de nitrogênio solúvel pode resultar em desconforto metabólico proporcionado pela alta absorção de amônia ruminal, devido ao assincronismo nutricional (nitrogênio: energia) (Forbes, 2007).

Para carboidratos de rápida degradação no rumen não há uma faixa de N-NH₃ específica, sendo sua reduzida concentração em relação ao aumento de concentrado na dieta justificada pelo melhor sincronismo entre energia e nitrogênio, ambas disponíveis no rumen, possibilitando uma maior eficiência de utilização da amônia para a síntese microbiana (Carvalho, 1998).

As diferentes fontes proteicas alimentares podem ser divididas em proteína verdadeira (aminoácidos e peptídeos) e nitrogênio não proteico, proveniente principalmente de amidas, com menor proporção de ureicos, aminas, nucleotídeos, clorofila e nitratos. Pode ainda ser dividida em proteína degradável no rumen (PDR) e proteína não degradável no rumen (PNDR). A PDR é a fonte de nitrogênio para o crescimento e síntese de proteína microbiana, consistindo tanto de nitrogênio não proteico quanto de aminoácidos e peptídeos.

Huhtanen et al. (2008) observaram relação positiva entre concentração de nitrogênio amoniacal das silagens e concentração de NUL. As concentrações de ureia no leite apresentam elevada correlação ($r=0,95$) com as concentrações sanguíneas e correspondem, em média, por 85% do valor de nitrogênio ureico do sangue (Harris Jr., 1996). Portanto, a concentração de ureia no leite, pode ser adotada como um indicador do manejo nutricional, principalmente com relação ao balanceamento da dieta (teor de PDR, teor de energia e relação PDR:carboidratos fermentáveis no rumen).

2.7.1. Eficiência microbiana

Alimentos pouco degradados no rumen aumentam a quantidade de proteína que chega ao duodeno, mas diminuem a concentração de proteína microbiana sintetizada no rumen. Segundo o NRC (2001), a proteína microbiana pode suprir de 50 a 100% da proteína metabolizável requerida para bovinos de corte, dependendo do conteúdo de proteína não-degradável na dieta. Dessa forma, a eficiência de síntese de proteína microbiana é economicamente importante para os requerimentos de proteína metabolizável.

A dieta é fundamental para otimizar a produção microbiana e sua eficiência fermentativa no ambiente ruminal. O excesso de carboidratos não-estruturais pode diminuir o pH ruminal e a eficiência de síntese microbiana, ao passo que a falta de carboidratos com taxas de fermentação mais rápidas reduz o teor de energia disponível para o crescimento bacteriano (Clark et al., 1992). De acordo com Clark et al. (1992), a sincronização da liberação de energia e nitrogênio dos alimentos pela degradação ruminal é necessária para potencializar a fermentação e a síntese de proteína microbiana ruminal.

Dessa forma, a concentração de nitrogênio amoniacal é dependente da degradabilidade da fonte proteica, da disponibilidade de carboidratos e do equilíbrio entre sua produção e utilização pelos microrganismos. Segundo Galyean (1996), em dietas com grãos altamente processados, os quais contêm elevada proporção de carboidratos não estruturais e proveem grande quantidade de matéria orgânica fermentável, pode haver um aumento na exigência microbiana por PDR. Se a PDR estiver limitada, a produção total de energia proveniente da fermentação e, em consequência o desempenho animal, podem ser afetados.

2.8 Glicerina

A utilização da glicerina bruta na alimentação de ruminantes em substituição a concentrados energéticos (Kerr et al., 2007), despertou a atenção dos pesquisadores, por se tratar de um problema de caráter ambiental, além de fornecer, uma alternativa de baixo custo e de grande quantidade, por ser um resíduo da produção de biodiesel.

O glicerol é o principal co-produto do biodiesel que é um combustível biodegradável derivado de fontes renováveis, como óleos vegetais (soja, dendê, girassol e mamona, etc.), óleos vegetais já utilizados (óleos de frituras) e gorduras animais. Esse composto é obtido por diferentes processos, tais como craqueamento, esterificação ou transesterificação que pode ocorrer por via enzimática ou alcalina (Thompson e He, 2006).

A transesterificação ou alcoolise é uma reação reversível, consiste na reação química de triglicerídeos com alcoóis (metanol ou etanol) na presença de catalisador (ácido, básico ou enzimático), resultando na substituição do grupo éster do glicerol pelo grupo etanol ou metanol (Silva e Freitas, 2008). A catálise mais usada é a alcalina, por apresentar a maior eficiência de conversão dos óleos em metil ésteres e por ocorrer mais rapidamente que as catálises ácida ou enzimática. A mistura de ésteres é separada da glicerina por centrifugação ou em tanque de separação. As soluções resultantes são então purificadas, gerando uma glicerina rica em glicerol e contaminantes como sabões, álcool e catalisadores.

Para cada 100 kg de biodiesel produzido, são gerados aproximadamente 10 kg de glicerina bruta (Knothe, 2006). Segundo Kerr et al. (2007), a glicerina resultante deste processo, contém de 75 a 80% de glicerol, sendo o restante composto por água, ácidos graxos (7 a 13%), minerais oriundos dos catalisadores (2 a 3%) e álcool (<0,5%). De acordo com o relatado na literatura existe grande variação na composição da glicerina bruta, o conteúdo de glicerol pode variar de 30,5 (Paige, 2009) a 90% (Potu et al., 2009). Devido a essas impurezas, os impactos no consumo, na digestibilidade dos componentes da dieta e no desempenho animal podem ser diferentes dos obtidos com a glicerina purificada, de custo mais elevado.

2.8.1 Glicerol na alimentação animal

O glicerol é um composto de alto conteúdo energético, sendo um eventual substituto de milho e outros concentrados energéticos ricos em carboidratos não-fibrosos na alimentação animal (DeFrain et al., 2004; Donkin et al., 2009). A microflora ruminal está apta a metabolizar o glicerol, que faz parte da composição dos fosfolípídeos presentes na parede celular de plantas e nas reservas de lipídeos dos óleos oriundos dos vegetais.

O glicerol é um substrato fermentável no rumen (Remond et al., 1993) e um precursor gliconeogênico via metabolismo hepático (Lin, 1977). Entretanto existe pouca informação sobre a utilização de glicerina bruta na dieta de ruminantes, especialmente em altas inclusões dietéticas.

Dentro do rumen, o glicerol pode seguir duas rotas metabólicas: absorção direta pelo epitélio da parede ruminal ou transformação em ácidos graxos de cadeia curta pelas bactérias ruminais (Remond et al., 1993), principalmente, o ácido propionico. Após chegar ao fígado, pela corrente sanguínea, tanto o glicerol como o propionato são transformados em glicose por gliconeogênese.

2.8.1.1 Metabolismo do glicerol no rumen

O glicerol está presente no metabolismo dos animais, sendo encontrado no sangue e nas células. Segundo Lin (1977), o glicerol é derivado da lipólise no tecido adiposo e da hidrólise dos triglicerídeos das lipoproteínas do sangue.

Boyd et al. (2009), também estudaram a resposta em perfil de fermentação ruminal ao aumento no teor de glicerina na dieta de vacas em lactação submetidas a três tratamentos: Controle, 200 g de glicerina ou 400 g de glicerina. O consumo de MS foi 24,2 kg pelas vacas do grupo controle, enquanto que as vacas dos grupos com 200 e 400 g de glicerina consumiram 23,0 kg de MS. A produção diária de leite foi maior no tratamento Controle do que no tratamento com 400 g de glicerina, sendo 37,2 e 35,8 kg respectivamente, mas não diferiu do tratamento com 200 g, de 37,2 kg. O teor de proteína no leite foi maior no tratamento com 400 g de glicerina e o teor de gordura foi maior no Controle. A proporção molar de propionato no líquido ruminal aumentou e a de acetato diminuiu com a suplementação de 400 g de glicerina comparativamente ao controle.

Abughazaleh et al. (2008) testaram os parâmetros digestivos de dietas em que a incorporação de glicerol variou de 0 a 45% da matéria seca e verificaram que até o nível de 15%, em substituição ao milho, não houve efeito adverso sobre a digestibilidade da fibra, embora a relação acetato : propionato tenha diminuído nos níveis mais altos de inclusão.

Potu et al. (2009) avaliando o efeito da substituição de milho por glicerol utilizando fermentadores contínuos onde os tratamentos foram: dieta controle com 60% de forragem e 12% de milho, e dietas contendo 15%, 30% e 45% de glicerol em substituição ao milho. Os autores verificaram que a digestibilidade da fibra em detergente neutro foi menor nos tratamentos contendo 30 e 45% de glicerol. Estes tratamentos induziram queda na concentração de acetato no fluido ruminal e aumento nos teores de butirato, valerato e isovalerato.

Rico et al. (2009) avaliaram a substituição milho ou melão de cana por glicerina bruta (42,5% de glicerol) em cultivo contínuo. A inclusão dietética de glicerina foi de 4% em substituição ao milho ou ao melão da dieta controle. Houve tendência ($P=0,07$) de aumento na relação entre acetato e propionato quando glicerina foi comparada ao melão (2,8 vs 2,5). A proporção molar de butirato foi menor ($P<0,01$) na dieta com glicerina comparada com o amido e melão (13, 16 e 18% do total de AGV). A concentração de amônia foi mais alta

($P < 0,01$) no tratamento com glicerina e a digestibilidade da matéria seca menor ($P < 0,05$) em relação a dieta com amido, mas não diferiu da dieta do melão.

Wang et al. (2009) alimentaram oito garrotes com canula ruminal com dieta controle sem glicerol, e com 100, 200 e 300 g de glicerina por dia (99% de glicerol). A dieta controle continha 60% de palha de milho e 20,8% de milho maduro moído. A excreção de derivados purínicos na urina teve comportamento quadrático ($P = 0,02$), sendo máxima na dose diária de 200 g de glicerina. A concentração de amônia no fluido ruminal caiu linearmente ($P = 0,03$), sugerindo que a glicerina pode ter aumentado a eficiência de síntese microbiana ou a desaminação ruminal de aminoácidos.

2.8.1.2 Metabolismo de glicerol no fígado

A maioria do glicerol no organismo é encontrada em triglicerídeos no tecido adiposo e é liberado para a corrente sanguínea por lipases durante a lipólise.

O glicerol absorvido é normalmente assumido como sendo um substrato gliconeogênico em vacas leiteiras. No fígado, o destino do glicerol absorvido é a oxidação pela via glicolítica, com necessidade da enzima glicerol quinase (Lin, 1977). Entretanto, quando há alta demanda de glicose, como no caso de vacas em lactação, o destino do glicerol passa a ser a gliconeogênese, juntamente com o propionato (Donkin et al., 2009). A fosforilação do glicerol é um passo inicial na síntese de glicose, triglicerídeos ou oxidação completa a CO_2 . A glicerol-quinase é encontrada no fígado e nos rins, mas também no cérebro, adipócitos e músculos esquelético e cardíaco (Rahib et al 2009).

Entretanto, a remoção hepática do glicerol presente na veia porta pode ser baixa. Existem relatos de aumento na concentração plasmática de glicerol em resposta a infusão do composto no rumen sem ser observado aumento simultâneo na concentração de glicose plasmática (Krehbiel, 2008).

2.8.2 Utilização de glicerol em dietas de ruminantes

DeFrain et al. (2004) avaliaram a suplementação de glicerina bruta por 21 dias antes e 21 dias pós-parto. As dietas das vacas foram Controle (0,86 kg/d de amido de milho), baixa glicerina (0,43 kg/d de glicerina bruta e 0,43 kg/d de amido de milho) ou alta glicerina (0,86 kg/d de glicerina bruta). Os autores concluíram que, a glicerina foi depressora de consumo, induziu menor teor de glicose plasmática e aumentou a concentração ruminal de butirato comparativamente ao amido de milho.

Shin et al. (2009) avaliaram a substituição de milho moído por glicerina em dietas variando no tipo da forragem. Os tratamentos foram 37% de silagem de milho e 10% de feno de alfafa ou dieta com 25% de casca de algodão e 10% de feno de tifton em arranjo fatorial de tratamentos com 0, 5 e 10% de glicerina (90% de glicerol). A relação entre a produção de leite e o consumo de matéria seca foi menor nas dietas com 5% de glicerina. Um aumento no teor dietético de glicerina reduziu linearmente a concentração de nitrogênio ureico no plasma, 16,1, 15,5 e 13,8 mg/dL, nos tratamentos 0, 5 e 10%, respectivamente. Não foi detectado efeito da suplementação com glicerina sobre a glicose plasmática e sobre o pH ruminal. Houve tendência de aumento na produção diária de leite de 34,4 para 35,6 kg quando a glicerina substituiu o milho na dieta contendo silagem de milho, mas houve tendência de queda de 37,7 para 36,4 kg quando a glicerina foi adicionada à dieta com casca de algodão. Os autores concluíram que os teores dietéticos de até 10% de glicerina podem ser usados para vacas em lactação.

Rico et al. (2009) avaliaram a substituição de amido de milho ou melaço de cana por glicerina (42,5% de glicerol). Observaram tendência de queda na produção de leite de 43,1 para 40,8 kg quando a glicerina substituiu melaço de cana ($P=0,08$) e não foi detectado efeito de tratamento sobre o consumo de matéria seca. A substituição de amido ou açúcar por glicerina reduziu o teor de proteína no leite.

Zacaroni et al. (2010) trabalhando com substituição do milho por glicerina, chegando a 12,3% de glicerina na dieta, relataram diminuição na produtividade, justificada pela falta de amido na dieta. O ganho de peso, tanto mensurado por período quanto diário, apresentou comportamento linear ($P<0,05$) com um acréscimo de 0,9106 e 0,0607 kg para cada unidade de glicerina, respectivamente, o que corrobora com o melhor balanço de energia.

Donkin et al. (2009) avaliaram a substituição parcial de milho por uma mistura isoproteica de glicerina purificada (99,5% de glicerol) e glúten de milho (6,25:1). Sessenta vacas da raça Holandês em lactação, distribuídas em quatro tratamentos, que consistiram da inclusão de 0, 5, 10 ou 15% de glicerina na dieta, com base na matéria seca. A dieta controle continha 20% de milho finamente moído e a dieta com 15% de glicerina continha 2,8% de milho. A produção diária de leite foi cerca de 37 kg e não foi afetada pelo tratamento, o teor de N-uréico no leite foi 12,5 mg/dL no tratamento controle e 10,6 mg/dL nos tratamentos com glicerina. Não foi detectado efeito de tratamento sobre o teor de sólidos do leite. O tratamento com 5% de glicerina reduziu a digestibilidade da fibra em detergente neutro comparativamente ao controle, mas foi similar aos tratamentos com 10 ou 15% de

glicerina. Estes dados sugerem que a substituição de milho por glicerina purificada, pode ocorrer com inclusões dietéticas de até 15% da MS.

Com o objetivo de avaliar os efeitos da inclusão de glicerina bruta, na dieta de bovinos de corte, sobre a ingestão de matéria seca, coeficiente de digestibilidade aparente ruminal, intestinal e total dos nutrientes, síntese de proteína microbiana, fermentação e cinética ruminal. Roman (2011) utilizou cinco novilhos da raça Nelore, providos com cânula ruminal. Os tratamentos consistiram em teores crescentes de glicerina: 0, 3, 6, 9 e 12% com base na matéria seca total da dieta. A ingestão, os coeficientes de digestibilidade aparente ruminal, intestinal e total da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro e carboidratos não-fibrosos não foram influenciados pelos tratamentos. A inclusão de diferentes teores de glicerina na dieta não influenciou na síntese de proteína microbiana nem a cinética ruminal. O autor concluiu que a glicerina pode ser utilizada na alimentação de bovinos em até 12% podendo ser considerada uma boa alternativa energética.

2.9 Metabolismo da glândula mamária

A glândula mamária de animais em lactação representa um importante órgão de utilização de nutrientes do organismo. Modificações no metabolismo geral do animal ocorrem antes e durante a lactação com mudanças na glândula mamária. Durante a lactação, a glândula mamária tem uma grande necessidade de glicose, sendo a que a maior parte é (90%) utilizada na formação da lactose. A quantidade total de lactose sintetizada no úbere está intimamente associada com a quantidade de leite produzida por dia. A concentração de lactose no leite é relativamente constante e a água é adicionada à lactose até que sua concentração seja cerca de 4,5%. Portanto, a produção de leite de uma vaca é fortemente influenciada pela quantidade de glicose.

Uma pequena parte da glicose é utilizada pela via das pentoses para produção de NADPH para a síntese de gordura. A glicose é convertida em glicerol, o acetato e o β -hidroxibutirato são usados para a formação de ácidos graxos que ficarão aderidos ao glicerol na formação da gordura do leite. A combustão das cetonas fornece a energia necessária para a síntese de gordura e lactose no úbere, mas o acetato e a glicose também podem ser utilizados como fonte de energia para células de vários tecidos.

A glândula mamária produz cerca de 50% da gordura do leite. Estes ácidos graxos são fabricados a partir das lipoproteínas formadas durante a absorção intestinal dos lipídeos. Os ácidos graxos de cadeia longa e insaturados presentes na gordura do leite tem origem alimentar ou endógena.

2.10 Partição da energia dos alimentos

2.10.1 Partição da energia dos alimentos, calorimetria e respirometria

A energia não é considerada um nutriente, mas o produto de processos metabólicos (reações de oxido-redução) durante a oxidação de carboidratos, proteínas e lipídeos, sendo parcialmente retida na forma de ATP e parte perdida na forma de calor (ex: $C_6H_{12}O_6 + O_2 = 6 CO_2 + 6H_2O + 31 ATP$ (53% da energia liberada) + $\Delta G^o -2.840 \text{ kJ/mol}$), que ira compor o incremento calórico. Esse também é produzido durante processos de anabolismo advindo da quebra do ATP, uma vez que as reações para ocorrerem necessitam de liberação de energia ($\Delta G^o < 0$) (Nelson e Cox, 2011). Dessa forma, os carboidratos, proteínas e lipídeos dos alimentos atuam como combustíveis para os processos vitais dos seres vivos, e cada um desses nutrientes é considerado pelo seu potencial em produzir energia na combustão (Resende et al., 2006).

Em virtude da lei de conservação de energia (1ª Lei da termodinâmica) e da lei de Hess (conversão de energia em calor) foi possível o estudo da transformação da energia no meio biológico. Essas leis são aplicadas nos estudos de nutrição animal e a primeira indica que a energia presente ou acrescida num tecido é proveniente da matéria orgânica (alimento) que foi absorvida. Já a associação das leis da termodinâmica e de Hess permitem obter a energia contida no substrato (alimento, fezes, produtos) por determinação do calor de combustão liberado em uma câmara adiabática, o qual é igual àquela liberada no processo biológico (Ferrel e Oltjen, 2008).

A partir da determinação da energia contida em um alimento, procurou-se desenvolver sistemas de avaliação que refletissem a capacidade do mesmo em prover uma resposta produtiva dos animais. Para tanto, a determinação dos gastos energéticos dos animais tem sido foco de pesquisa há anos. A habilidade de quantificar todas as perdas de energia pelos ruminantes só foi possível após a descoberta do metano nos gases respiratórios e compreensão dos fatores que influenciam a perda de calor (Van Soest, 1994). Buscando descrever a utilização, as perdas e as eficiências energéticas pelo animal para os diferentes alimentos, dietas, quantidade consumida e produção (Chwalibog, 2004).

A energia bruta (EB) ou calor de combustão é a energia química presente nos alimentos obtida pela combustão completa a CO_2 e H_2O . Representa a energia liberada na forma de calor quando uma substância orgânica é completamente oxidada, porém a energia bruta guarda pouca relação com o que está disponível para o animal, devido às perdas variáveis no processo de digestão e metabolização (Chwalibog, 2004).

A produção de fezes é a primeira evidência de que nem todos os constituintes da dieta consumida são utilizados pelo animal (Resende *et al.*, 2006). Grande parte da proteína das fezes representa não a proteína indigestível do alimento, mas sim as proteínas das bactérias, e muitos dos carboidratos presentes são polissacarídeos de origem microbiana (Blaxter, 1962). A energia bruta contida nas fezes pode ser subtraída da energia bruta ingerida, originando a energia aparentemente digestível (ED). A palavra aparente significa que a perda fecal não é constituída unicamente de material indigestível, contendo também substâncias de origem endógena.

Avaliando-se a composição química de diferentes alimentos e as respectivas perdas fecais de energia, pode se estabelecer uma relação entre ambos. As pequenas perdas fecais estão associadas com altas concentrações de carboidratos não fibrosos, como açúcares, amido e frutanas. E as maiores perdas fecais estão associadas com a presença de grandes quantidades de carboidratos fibrosos, como a celulose e as hemiceluloses, e as ligninas (Van Soest, 1994). Entretanto, deve ser enfatizado que a digestibilidade de determinado nutriente varia com o tipo de alimento em que o mesmo está contido. A diferença entre a energia bruta do alimento ingerido e a energia bruta do material excretado nas fezes não fornece uma medida do valor energético dos nutrientes absorvidos no trato intestinal.

Parte da energia aparentemente absorvida pelo animal é perdida na forma de gases provenientes da fermentação dos alimentos pelos microrganismos ruminais, e outra parte é perdida na urina (Chwalibog, 2004). Quando essas perdas de energia (urina e gases) são subtraídas da energia aparentemente digestível, o balanço é chamado de energia metabolizável (EM).

Com o avanço da pesquisa, experimentos de metabolismo foram empregados para determinar primeiramente a ED, pela diferença entre energia bruta ingerida (alimento) e excretada (perda fecal formada por resíduo alimentar e perda endógena).

A energia digestível fornece uma superestimativa da energia aparentemente absorvida, pois não contabiliza as perdas energéticas do calor de fermentação e provenientes dos gases

produzidos resultante da fermentação (CO₂, CH₄, outros) eliminados por eructação. Dentre eles destaca-se o metano pela grande perda energética para o animal e significativo impacto ambiental (calor de combustão de -802 kJ/mol; 6-8% da energia do alimento). Dietas ricas em forragens vs concentrados resultam em maior produção de metano e conseqüentemente maior super-estimativa (Van Soest, 1994).

Com o avanço na capacidade de quantificação desses gases produzidos durante a fermentação foi possível obter a EM, nesta desconta-se a energia perdida na forma de gases e na urina (EM=ED-(energia dos gases e urina)). A perda urinária representa a energia absorvida que foi eliminada na forma de compostos não utilizados, metabólitos (ureia) e produtos endógenos.

A EM corresponde à energia efetivamente disponível para o metabolismo do animal (manutenção, crescimento e produção) e em média corresponde por 82% da energia digestível (NRC, 2001), mas é variável de acordo com a dieta e espécie (bovinos, 0,81; ovinos, 0,73 e caprinos, 0,86) (Resende et al., 2006). Prioritariamente a EM é utilizada para atendimento da exigência basal, que reflete a mínima produção de calor necessária para que ocorram os processos vitais de um animal saudável, em jejum e em repouso (Diener, 1997). Gastos adicionais de energia para termorregulação, atividade muscular (ingestão, movimento, reprodução) e gasto energético extra após alimentação (IC) irão complementar as exigências metabólicas de manutenção do animal (Posada et al., 2011).

Para manutenção a EM pode ser mensurada pela produção de calor (PC) do animal, mantido em ambiente termoneutro, quando a ingestão de energia metabolizável está em balanço com a perda de calor (Ortigue et al., 1993), ou seja não há alteração do peso ou condição corporal do animal. A mensuração da taxa metabólica basal é feita em animais em estado pós-absortivo, em repouso (mas conscientes) e mantidos em ambiente termoneutro. Para determinar quando o ruminante está em estado absortivo, um dos critérios utilizados é a ausência de produção de metano, o que geralmente acontece com o animal em jejum durante um período de 48 a 144 horas após a última refeição.

Assim, a EM para manutenção representa a produção de calor do animal, mantido em ambiente termoneutro, quando a ingestão de energia metabolizável está em balanço com a perda de calor (Resende *et al.*, 2006). Ou seja, reflete a produção de calor de um animal alimentado, mas que não apresenta ganho de peso e modificações na sua composição corporal, incluindo:

- Calor de regulação térmica: é o calor adicional necessário para manter a temperatura corporal quando a temperatura do ambiente está acima ou abaixo da zona termoneutra.
- Calor de atividade: produção de calor resultante da atividade muscular.
- Calor despendido: necessário para a realização da circulação, respiração, processos metabólicos básicos, incluindo a renovação tecidual.

A magnitude do IC depende da quantidade de alimento ingerido e da composição da dieta. O aumento do consumo resulta em maior IC, em razão do maior gasto de energia associado a digestão, absorção e anabolismo dos tecidos. O incremento calórico é composto pelo 1) metabolismo de nutrientes (ineficiências energéticas na conversão do substrato a ATP); 2) calor de digestão e absorção, resultado da ação enzimática e transporte ativo em membranas (ex. bomba de sódio e potássio); 3) calor de fermentação, resultado da ação microbiana e principal componente nos ruminantes; 4) calor de formação de produto, o qual é produzido nos processos anabólicos a partir dos substratos absorvidos (ex: glicogênese, síntese proteica); 5) calor de excreção, associado à síntese e excreção de produtos finais, como por exemplo, a síntese de uréia a partir da amônia no fígado e atividade dos rins (Bondi, 1987). Para alimentos concentrados, o IC varia de 15% a 25% da EM, enquanto que para forragens, a variação situa-se entre 35% a 60% da EM (Chwalibog, 2004).

Assim, a diferença entre a EM ingerida e a produção de calor resulta na energia retida ($ER=EM-PC$) ou balanço de energia, ou seja, disponível para crescimento e produção (feto, leite, carne ou lã) (Chwalibog, 2004). A Energia Líquida total pode ser dividida entre:

energia líquida retida em substâncias, isto é, a soma da energia armazenada nas proteínas, carboidratos e gordura, e; energia líquida associada à manutenção, ou seja, a quantidade de calor produzido para os processos de manutenção do corpo.

A ER corresponde a energia líquida retida (EL_R) na forma de proteína, gordura e carboidratos. Para animais em manutenção tem sido um grande problema o uso do sistema de energia líquida para descrever o balanço energético, porque não há um produto a ser mensurado, além da produção de calor desses animais. Assim, todos os sistemas que usam energia líquida utilizam a produção de calor em jejum como base para estimar a exigência de energia líquida para manutenção ($EL_m = PC$ jejum).

Portanto a energia líquida (EL) equivale à energia utilizada para a realização de diferentes funções, sejam essas funções a retenção de substâncias nos tecidos e produtos ou a produção de calor liberado durante os processos de manutenção. O conteúdo de EL de um mesmo

alimento varia em função da espécie e condição fisiológica do animal para a qual o alimento é fornecido e em função da finalidade para a qual a energia será utilizada (manutenção ou ganho) (Chwalibog, 2004). Isso ocorre porque as perdas de energia durante os processos digestivos e metabólicos iram influenciar na eficiência de fluxo de energia no animal. Assim, fatores que alterem o ambiente ruminal (nível de consumo, frequência de alimentação, nível e tipo de concentrado, aditivos) e comprometam a digestibilidade do alimento (tamanho de partícula, processamento, taxa de passagem) iram alterar os valores de energia líquida, em razão de flutuações na produção de metano, digestibilidade e metabolismo dos tecidos. Assim a determinação da energia líquida deve ser realizada o mais próximo das condições de uso.

As perdas de energia podem ser utilizadas para avaliar a qualidade do alimento. Dessa forma, conceitos como metabolizabilidade (q) e eficiência de utilização (K) foram estabelecidos. A metabolizabilidade representa a relação entre a energia metabolizável e a energia bruta do alimento ($q = (EM/EB) \times 100$), indicando qual a porcentagem da energia bruta foi perdida no conjunto fezes, urina e gases. Para animais em manutenção é referida como q_m e para teores acima da manutenção com q_L , onde L é o múltiplo da manutenção. A metabolizabilidade é diretamente influenciada pela digestibilidade, assim aumentos no consumo podem resultar em decréscimos na metabolizabilidade, associado ao aumento na taxa de passagem e redução na digestão dos carboidratos (Agnew e Yan, 2005).

Atualmente, o critério mais adequado e amplamente utilizado para expressar os requerimentos de energia dos animais e o valor energético dos alimentos, nos cálculos de ração, é o sistema de EL (Fontes et al., 2005). Entretanto, os valores de energia líquida dos alimentos utilizados por esses sistemas são estimados por equações derivadas a partir de valores de nutrientes digestíveis totais (NDT) ($1g\ NDT=3,9\ kcal\ EM$), que são calculados pela composição química dos alimentos, incorporando erros acumulativos das análises químicas, desvios de predição das equações e sem avaliação direta do efeito do animal. Por essa razão, a determinação da energia líquida dos alimentos a partir da produção de calor do animal (calorimetria) ou via produtos retidos (abate comparativo) são os métodos de escolha para avaliar a disponibilidade de energia do alimento e a sua eficiência de utilização (Agnew e Yan, 2005).

2.10.2 Calorimetria indireta

Calorimetria é a mensuração de calor, através da qual os gastos energéticos dos animais podem ser estimados. O calor pode ser mensurado diretamente utilizando métodos físicos (Calorimetria Direta) ou pode ser determinado por mensurações quantitativas de alguns dos subprodutos do metabolismo animal (Calorimetria Indireta) (Diener, 1997).

Por causa da complexidade dos calorímetros diretos, especialmente para uso com grandes ruminantes, a maioria dos métodos calorimétricos utilizados a partir da segunda metade do século XX tem sido a calorimetria indireta (Resende *et al.*, 2006). A calorimetria indireta é um método não-invasivo que determina as necessidades nutricionais e as taxa de utilização dos substratos energéticos

Na calorimetria indireta a produção de calor total é determinada por meio de mensurações quantitativas de subprodutos do metabolismo do animal (CO_2 , urina e metano) e consumo de oxigênio (Resende *et al.*, 2006), baseando-se no princípio de que a produção de calor metabólico é resultado da oxidação de compostos orgânicos e de perdas incompletas como a ureia e o metano. Para tanto usa-se a equação de Brouwer (1965): $H \text{ (kj)} = 16,18 \times \text{O}_2 \text{ (l)} + 5,02 \times \text{CO}_2 \text{ (l)} - 5,88 \times \text{Nu (g)} - 2,17 \times \text{CH}_4 \text{ (l)}$, onde H é a produção de calor, Nu é o nitrogênio urinário. Neste sentido o QR pode ser empregado para conhecer o tipo de substrato que está sendo oxidado pelo animal. Os quocientes respiratórios de carboidratos, proteína e gorduras são 1,0; 0,8 e 0,7, respectivamente (Diener, 1997).

Existem diversas técnicas para medir as trocas gasosas na respiração e todas elas levam em consideração o consumo de O_2 e a produção de CO_2 por unidade de tempo, sendo que as câmaras podem ser de circuito aberto ou fechado (Resende *et al.*, 2006). No sistema de circuito fechado, a mesma quantidade de ar é recirculada, passando através de absorventes de CO_2 e umidade. Há também adição de novas quantidades de O_2 puro, substituindo o que foi utilizado pelo animal, a fim de manter a composição do ar normal. O total de CO_2 produzido é encontrado diretamente pela diferença de peso dos absorventes antes e depois do experimento. O total de O_2 consumido pelo animal é determinado pela mensuração volumétrica da adição de gás no sistema. (Chwalibog, 2004). O metano é determinado pela retirada de amostras de ar sobre caulim platinizado aquecido ao rubro, podendo ser estimado por meio de fórmulas matemáticas. Sistemas de circuito fechado foram usados extensivamente para humanos e pequenos animais, sendo pouco utilizados em grandes animais. Ainda assim, sua aplicação foi bem menor que os sistemas de circuito aberto (Resende *et al.*, 2006).

2.10.3 Eficiência de utilização da energia

Metabolizabilidade

Vários trabalhos foram conduzidos na tentativa de estabelecer a relação entre o nível de consumo e a metabolizabilidade da dieta. O decréscimo da metabolizabilidade da dieta, quando o consumo é alto, pode ser atribuído ao aumento na taxa de passagem, diminuindo a digestão dos carboidratos, com conseqüente diminuição da digestibilidade e aumento das perdas fecais (Geay, 1984).

Eficiência de utilização da energia metabolizável para manutenção (K_m)

Eficiência é usualmente expressa como o balanço entre entrada e saída. A maioria dos sistemas nutricionais utilizam como ponto de partida para o cálculo da eficiência a EM para manutenção que pode ser expressa como K_m:

$$K_m = \frac{EL_m \times 100}{EM_m}$$

Enquanto que a eficiência de utilização da energia no tecido ou produto pode ser expressa como K_g:

$$K_g = \frac{EL_g \times 100}{EM - EM_m}$$

Os valores de energia líquida ou eficiência parcial de utilização não são constantes, sendo influenciados pela ingestão no qual a mensuração é feita (Garret e Johnson, 1983). Desta forma, a relação entre a ingestão de energia e balanço de energia mostra-se curvilínea. Para determinar a eficiência parcial da EM, ou valores de EL, é necessário utilizar mais de um nível de consumo.

O grande problema do uso do sistema de EL para descrever o balanço energético tem sido para animais em manutenção, porque não há um produto a ser mensurado, além da produção de calor. Assim, as perdas de calor resultantes de reações bioquímicas ineficientes não podem ser diferenciadas do uso da energia para funções de manutenção (Van Soest, 1994).

Esse problema é parcialmente resolvido a partir da mensuração da produção de calor (PC) em jejum, o qual é resultado da metabolização dos tecidos corporais para suprir a energia necessária para manter o animal. Todos os sistemas utilizam a produção de calor em jejum como base para estimar a exigência de energia líquida para manutenção ($EL_m = PC_{\text{jejum}}$).

E a EM para manutenção é definida como o consumo de EM no qual não há retenção de energia ($ER=0$). Ou seja, toda a EM ingerida equivale à produção de calor do animal, não ocorrendo ganho ($EM=PC$). Assim, a eficiência de uso da EM_m é estimada como a razão entre a PC em jejum e a PC em manutenção (EM_m) ou pelo coeficiente de regressão da ER x EM ingerida, quando o balanço de energia é negativo ($ER<0$) (Van Soest, 1994).

Dados da literatura indicam que a eficiência do uso da EM_m é relativamente constante e independe da composição do alimento. O AFRC (1993) adota a fórmula: $K_m = 0,35 q_m + 0,503$. Como a metabolizabilidade dos alimentos varia em torno de 35% a 80%, os valores de K_m encontram-se entre 65% a 78%.

2.10.4 Produção de metano entérico por ruminantes

A necessidade por eficiência energética tem impulsionado a pesquisa no sentido de reduzir as perdas ligadas ao incremento calórico e a produção de metano (Cotton e Pielke, 1995). Este apresenta grande impacto ambiental em razão da participação no efeito estufa. O gás metano apresenta potencial de aquecimento global 25 vezes maior que o CO_2 e permanece na atmosfera por longo tempo (9 a 15 anos) (IPCC, 2006).

Entre as fontes antrópicas de emissão de metano, a produção desse gás por fermentação entérica dos ruminantes contribui com 22% da produção mundial, representando 3,3% do total dos gases do efeito estufa (USEPA, 2000). O metano entérico é um produto secundário da fermentação ruminal e corresponde a 27% de todo o gás produzido no rumen, ficando atrás apenas do dióxido de carbono (CO_2) com 65%. Os bovinos podem produzir de 150 a 420 litros ou 39 a 109,5 kg de metano/dia, já ovinos podem chegar a 25 a 55 litros ou 6,5 a 14,4 kg ao dia (McAllister et al., 1996).

2.10.4.1 Formação do metano entérico e seu papel no ecossistema ruminal

A fermentação dos nutrientes alimentares pela microbiota ruminal (bactérias, protozoários e fungos) resulta na formação de AGCC, usados pelo ruminante como fonte de energia, e produção de gases (CO₂ e CH₄), eliminados pela eructação (Martin *et al.*, 2009).

A fermentação é um processo oxidativo, durante o qual ocorre a formação de co-fatores reduzidos (NADH, NADPH e FADH). Para que o processo fermentativo não seja paralisado, esses co-fatores são então re-oxidados (NAD⁺, NADP⁺ e FAD⁺) pelas reações de desidrogenação, liberando hidrogênio no rumen. Como processo acceptor de elétrons, a metanogênese remove continuamente o H₂ do meio. Dessa forma, a formação de metano é essencial para o ótimo desempenho do ecossistema ruminal porque evita o acúmulo de H₂ no rumen, o que poderia levar à inibição da atividade desidrogenase, envolvida na re-oxidação dos co-fatores reduzidos.

Vias metabólicas de formação do metano entérico

Os substratos mais importantes para metanogênese são o H₂ e o CO₂. O ciclo de formação do metano pela Archaea metanogênica a partir do dióxido de carbono envolve a captação de quatro moléculas de hidrogênio:



As achaeobactérias são também capazes de utilizar o H₂ na redução de moléculas de formato, acetato, metilamina e metanol para a produção de metano (Wolin *et al.*, 1997).

Os diferentes produtos finais formados durante a fermentação ruminal (AGCC) não são equivalentes em termos de liberação de hidrogênio. A produção de acetato e butirato, predominante durante a fermentação de carboidratos fibrosos, resulta em liberação líquida de hidrogênio e favorece a metanogênese. Já a formação de propionato é uma via competitiva de utilização de hidrogênio no rumen, reduzindo a disponibilidade de substrato para a metanogênese. Portanto, produção de metano, que depende do balanço de hidrogênio no rumen, é influenciada pelas taxas de produção de acetato e propionato (Hegarty, 2001), como descrito por Van Soest (1994):

- Glicose \rightarrow 2 acetato + 2 CO₂ + 8H⁺
- Glicose \rightarrow 1 butirato + 2 CO₂ + 4 H⁺
- Glicose + 4 H⁺ \rightarrow 2 propionato + 2 H₂O
- CO₂ + 8H⁺ \rightarrow CH₄ + H₂O

Pode-se perceber o efeito negativo do propionato sobre a metanogênese devido à competição pelo mesmo substrato o H₂.

Relações interespecies

No rumen, as Archaea metanogênicas são encontradas intimamente associadas aos protozoários ciliados e em justaposição com bactérias, não sendo essa, no entanto, uma localização obrigatória. Os protozoários contribuem para a metanogênese fornecendo H₂ produzido durante a fermentação dos carboidratos, servindo de hospedeiros para cerca de 30% das bactérias metanogênicas (Finlay et al., 1994). A associação das metanogênicas com esses ciliados indica uma relação simbiótica, em que as metanogênicas, por utilizarem o hidrogênio produzido pelos ciliados, favorecem a manutenção de um ambiente ruminal adequado ao desenvolvimento desses microrganismos (Pedreira et al., 2005).

O metabolismo de duas espécies ruminais importantes na degradação de carboidratos fibrosos (*Ruminococcus albus* e *Rumicoccus flavefaciens*) é influenciado pela pressão parcial de hidrogênio no rumen e, portanto, pela atividade das metanogênicas.

2.10.4.2 Perdas energéticas via metano entérico

A produção de metano entérico representa uma significativa perda de energia pelos ruminantes, sendo tipicamente encontrados valores de 5,5% a 6,5% da energia bruta ingerida (Johnson e Ward, 1996). Entretanto, mensurações realizadas em câmaras respirométricas (calorimetria indireta) mostraram grande variação na emissão de metano, de 2% a 12% da energia bruta ingerida (Johnson e Johnson, 1995).

Embora seja reconhecido que a composição da dieta afeta a contribuição dos ruminantes para a produção de gases de efeito estufa, o Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas, responsável pelo desenvolvimento de metodologias para estimar inventários de emissão global, apenas faz diferenciação entre duas dietas (IPCC 2006):

- Dietas com mais 90% de concentrado: taxa de conversão de CH₄ de 3% da EB ingerida e;
- Dietas com menos de 90% de concentrado: taxa de conversão de CH₄ de 6,5% da EB ingerida.

Avaliando a produção de CH₄ Kaharabata et al. (2000) observaram que uma vaca de leite pesando aproximadamente 600 kg pode apresentar uma produção total variando de 375 a 630 litros de CH₄/dia, sendo que a energia perdida na forma de metano (13,344 Kcal/g) seria suficiente para produzir 4,55 e 7,65 kg de leite com 4% de gordura, respectivamente. Johnson et al. (2003) observaram produção de CH₄ de 256 litros/dia em novilhos (9,1% da EB ingerida), 193,9 litros/dia para novilhas (5,6% da EB) e 548,2 litros/dia (5,7% da EB) para vacas em lactação. Murray et al. (1976) encontraram taxas de produção de metano de 21 mL/minuto para ovinos, sendo 87% da produção originária no rumen e 13% no intestino grosso.

Além disso, observa-se grande variabilidade na produção de metano entre animais (87%), que pode estar associada às diferenças na microbiota ruminal, seja diretamente sobre a população de metanogênicos ou sobre a população de microrganismos celulolíticos. Esse efeito em particular pode ser responsável por diferenças nas eficiências energéticas entre animais semelhantes mantidos sobre mesma dieta. Outros aspectos associados que podem influenciar na produção de metano são a capacidade de seleção do alimento, características tempo de retenção do alimento no rumen, a proporção e o tipo de concentrado da dieta e as associações de fatores que conduzem à maior ou menor capacidade de digestão da fibra dos alimentos. Embora o consumo de matéria seca se relacione positivamente com a emissão de CH₄ (g/d), apenas 13% da produção ruminal é associada a diferenças no consumo (Lassey, 2007). Portanto é de fundamental importância o conhecimento detalhado sobre os mecanismos de síntese e os fatores que afetam sua produção, para que seja possível traçar estratégias para mitigação da produção de metano ruminal.

Blaxter e Claperton (1965) observaram relação inversa entre produção de metano e o aumento da digestibilidade da dieta para animais com consumo acima da manutenção. Isso é verdade para condições onde há aumento na quantidade de concentrado na dieta, devido a redução no pH ruminal e menor disponibilidade de substratos para os microrganismos metanogênicos. Para animais mantidos em pastagens, o aumento da ingestão de energia decorrente da melhor qualidade do pasto, seleção do animal e maior ingestão de MS, resulta em aumento na produção de metano.

Assim, a melhor forma de avaliar a produção de metano é considerar a produção por unidade de produto animal formado (kg de leite, carne, lã). Diante desse parâmetro pode ser estabelecido um equilíbrio entre a necessidade de produção de alimento para a crescente população e a emissão de gases de efeito estufa, além de evitar que sistemas de produção eficientes sejam penalizados. Portanto, a redução da produção de metano entérico sem alterar a produtividade animal é desejável, tanto como uma estratégia de mitigar a emissão total de gases de efeito estufa, como também de melhorar a eficiência de conversão alimentar dos ruminantes.

De acordo com Beauchemin et al. (2008), a metanogênese é influenciada pelo método de conservação e o processamento, sendo que tende a ser menor quando a forragem é ensilada vs desidratada, e quando ela é finamente moída ou peletizada vs grosseiramente picada. A moagem e a peletização de forragens reduzem marcadamente a metanogênese (queda de 20 a 40% da produção de metano por unidade da dieta) (Blaxter, 1965), devido ao aumento da taxa de passagem. Entretanto, esses efeitos não são aparentes quando o consumo desses alimentos é restrito.

A avaliação da emissão de metano por meio de câmaras respirométricas é considerado como método padrão (*Standard Gold*) para a calibragem e desenvolvimento de novas metodologias. Nessa técnica há quantificação precisa dos gases produzidos (respiração, eructação e ejeção retal) e do consumo do animal, possibilitando ainda avaliar em conjunto o metabolismo energético (Machado et al., 2011).

A quantificação do potencial de emissão de metano por ruminantes consumindo diferentes alimentos disponíveis nas regiões tropicais, como a silagem de milho, possibilita a geração de dados a serem utilizados para o desenvolvimento de inventários sobre a emissão de gases de efeito estufa pelos sistemas de produção agropecuários, bem como para a avaliação de estratégias de mitigação.

2.11 Referências Bibliográficas

ANDRIGUETTO, J.M.; PERLY, L.; MINARDI, I. et al. *Nutrição Animal*. 4.ed. São Paulo: Nobel. v.1, 1990. 395p.

ABUGHAZALEH, A.A.; EL-NOR, S.A.; BABU, R. The effect of replacing corn with glycerol on rumen fermentation and fiber digestibility. *Journal of Animal Science*, v.86, E-Suppl.2, p.474, 2008.

AGNEW, R.E.; YAN, T. Calorimetry. In: DIJKSTRA, J.; FORBES, J.M.; FRANCE, J. (Eds). Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism. 2.ed., 2005. 736p.

AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL. Energy and requirements of ruminants. Wallingford, CAB INTERNATIONAL. 1993. 159p.

BEAUCHEMIN, K.A.; KREUZER, M., O'MARA, F. et al. [2008]. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, v.48, n.2, p.21–27. 2008. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1071/EA07199> >. Acesso em: 09 dez. 2011.

BEAUCHEMIN, K.A.; MCALLISTER, T.A.; DONG, V. Et al. Effects of mastication on digestion of whole cereal grains by cattle. *Journal of Animal Science*, v.72, n.2, p.236-246, 1994.

BERCHIELLI, T. T.; GARCIA, A. V.; OLIVEIRA, S. G. *Principais técnicas de avaliação aplicadas em estudo de nutrição*. In: Berchielli, T.T.; Pires, A.V.; Oliveira, S.G. Nutrição de ruminantes. Jaboticabal: FUNEP. p.397-421. 2006.

BLAXTER, K. L. The Energy Metabolism of Ruminants. Illions:Springfield, 1962. 187p.

BLAXTER, K.L.; CLAPPERTON, J.L. [1965]. Prediction of the amount of methane produced by ruminants. *British Journal of Nutrition*, v.19, n.1, p.511-522, 1965. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1079/BJN19650046> >. Acesso em: 28 set. 2011.

BROUWER E .Report of subcommittee on constants and factors. In: BLAXTER, K.L. (Ed.), The Energy Metabolism of Ruminants. 3.ed. Proceedings Symposium of Energy Metabolism in Farm Animals, European Association for Animal Production (EAAP), publ. n.11. London: London Academic Press. 1965, p.441-443.

BONDI, A.A. *Animal Nutrition*. Magnes Press, The Hebrew University of Jerusalem (English Edition by John Wiley & Sons).1987. 556p.

BULÉON, A.; GALLANT, D.J.; BOUCHET, B.; MOUILLE, G.; D'HULST, C.; KOSSMANN, J.; BALL, S. Starch from A to C. *Plant Physiology*. v. 115, p. 949-957, 1998.

CARVALHO, M.P. *Substituição do milho por subprodutos energéticos em dietas de bovinos à base de bagaço de cana tratado à pressão e vapor: digestibilidade e parâmetros ruminais*. 1998. 101 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia com área de concentração em

Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1998.

CHANDRASHEKAR, A.; MAZHAR, H. The biochemical basis and implications of grain strength in sorghum and maize. *Journal Cereal Science*, v.30, p.193-207, 1999.

CHESSON, A., FOSBERG, C.W. Polysaccharide degradation by rumen microorganisms. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Eds). *The Rumen Microbial Ecosystem*, 2 Ed, London: *Blackie Academic and Professional*, 1997, p. 329-381.

CHWALIBOG, A. Physiological basis of heat production: The fire of life, rederiksberg: Denmark , The Royal Veterinary and Agricultural University, Department of Animal and Veterinary Basic Sciences, *Research School of Animal Nutrition and Physiology*, 2004. 23p.

CLARK, J.H., KLUSMEYER, T.H., CAMERON, M.R., Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to duodenum of dairy cows. *Journal Dairy Science*, 1992.75:2304-2323

COTTON, W.R.; PIELKE, R.A. Human impacts on weather and climate. Cambridge: *Cambridge University*, 1995, 288p.

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.

DIENER, J. R.C. [1997]. Calorimetria indireta. *Revista da Associação Médica Brasileira*. v.43, n.3, p.245-253, 1997. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-42301997000300013> >. Acesso em: 17 set. 2011.

DIJKSTRA, J. 1994. Production and absorption of volatile fatty acids in the rumen. *Livestock Production Science* 39:61–69.

DONKIN, S. S.; KOSER, S. L.; WHITE, H. M. et al. Feeding value of glycerol as a replacement for corn grain in rations fed to lactating dairy cow. *Journal of Dairy Science*, v. 92, n. 10, p. 5111-5119, 2009.

FANCHER, B.I., ROLLINS, D., TRIMBEE, B. Feed processing using the annular gap expander and its impact on poultry performance. *Applied Poult Research*, v.5, p. 386-394., 1996.

FERRELL, C.L.; OLTJEN, J.W. [2008]. Net energy systems for beef cattle: Concepts, application, and future models. *Journal of Animal Science*, v. 86, n.10, p.2779-2794. 2008. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.2527/jas.2008-0954> >. Acesso em: 02 set. 2011.

FINLAY, B.J.; ESTEBAN, G.; CLARKE, K.J.; WILLIAMS, A.G.; EMBLEY, T.M; HIRT, R.P. Some rumen ciliates have endosymbiotic methanogens. *FEMS Microbiology Letters, Delft*, v.117, p.157-161, 1994.

FONTES, C.A.A.; OLIVEIRA, R.C.; ERBESDOBLER, E.D. et al. [2005]. Conteúdo de energia líquida para manutenção e ganho do capim-elefante e mudanças na composição corporal de novilhos em pastejo, durante a estação chuvosa. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.34, n.5, p.1711-1720, 2005. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-359820050005000> >. Acesso em: 30 ago. 2011.

FORBES, J. M. [2007]. *Voluntary Food Intake and Diet Selection in Farm Animals*. 2 ed. Wallingford, U.K: CAB *International*, 2007. 453p.

GALYEAN, M.L. Protein levels in beef cattle finishing diets: Industry application, University research, and Systems results. *Journal of Animal Science*, Lubbock, v.74, p.2860, 1996.

GARRETT, W. N.; JOHNSON. D.E. [1983]. Nutritional energetics of ruminants. *Journal of Animal Science*, v.57, n.1, p.478-497. (Suppl_2) Disponível em:< http://www.journalofanimalscience.org/content/57/Supplement_2/478 >. Acesso em: 17 set. 2011.

GEAY, Y. [1984]. Energy and protein utilization in growing cattle. *Journal of Animal Science*, v.58, n.3, p.766-778. 1984. Disponível em: <http://www.journalofanimalscience.org/content/58/3/766> >. Acesso em: 05 set. 2011.

HARRIS JR., B. Using milk urea nitrogen and blood urea values as management tools. In: LYONS, T.P.; JACQUES, K.A. (Eds.) *Biotechnology in the feed industry*. Nottingham: *Nottingham University Press*, 1996. p.75-81.

HEGARTY, R. Greenhouse gas emissions from the Australian livestock sector what do we know, what can we do?. Canberra: *NSW Agriculture Australian Greenhouse Office*, 2001. 35p. Disponível em: < http://www.enviroaccounts.com/data-management/agriculture/methane_emissions.pdf/view >. Acesso em: 13 set. 2011.

HUHTANEN, P.; NOUSIAINEN, J.I.; RINNE, M. et al. [2008]. Utilization and partition of dietary nitrogen in dairy cows fed grass silage-based diets. *Journal of Dairy Science*, v.91, n.9, p.3589-3599, 2008. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2008-1181> >. Acesso em: 25 out. 2011.

HUNTINGTON, G.B. Ruminant starch utilization progress has been extensive. *Feedstuffs*, v.2, n.2, p. 35, June 1994.

HUNTINGTON, G.B. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. *Journal of Animal Science*, Savoy, v. 75, p. 852-867, 1997.

INTERGOVERNAMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE. [2006]. *Emissions from livestock and manure management*. In: EGGLESTON, H. S.; BUENDIA, L.; MIWA, K. et al.(Eds), IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories. Hayama: IGES, 2006.chap.10, p.747-846. Disponível em: < http://www.ipcc.gip.iges.or.jp/public/2006gl/pdf/4_Volume4/V4_10_Ch10_Livestock.pdf >. Acesso em: 26 out. 2011.

JOHNSON, D.E.; FERRELL, C.L.; JENKINS, T.C. [2003]. The history of energetic efficiency research: Where have we been and where are we going?. *Journal of Animal Science*, v.81, n.13, p.E27-E38. 2003. (Suppl_1). Disponível em: < http://www.journalofanimalscience.org/content/81/13_suppl_1/E27 >. Acesso em: 22 set. 2011.

JOHNSON, K.A.; JOHNSON, D.E. [1995]. Methane Emissions from Cattle. *Journal of Animal Science*, v.73, n.8, p.2483-2492, 1995. Disponível em: < <http://www.journalofanimalscience.org/content/73/8/2483> >. Acesso em: 22 set. 2011.

JOHNSON, D.E.; WARD, G.M. Estimates of animal methane emissions. *Environmental Monitoring and Assessment*, v.42, p.133-141, 1996.

KAHARABATA, S.K.; SCHUEPP, P.; DESJARDINS, R.L. Estimating Methane Emissions from Dairy Cattle Housed in a Barn and Feedlot Using an Atmospheric Tracer. *Environmy Sciency Technology.*, v.34, n.15 p. 3296-3302, 2000.

KERR, B.J.; HONEYMAN, M.; LAMMERS, P. et al. 2007. Feeding bioenergy coproducts to swine. Crude glycerol. *Iowa State University Animal Industry*. Disponível em: <http://www.ans.iastate.edu>. Acesso em 27 novembro 2011.

KNOTHE, G. *Manual do biodiesel*. São Paulo: Edgard Blucher, 340p. 2006.

KREHBIEL, C. R. Ruminant and physiological metabolism of glycerin. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 86, n. 1, p. 392, Jan. 2008.

KOTARSKI, S.F.; WANISKA, R.D.; THURN, K.K. Starch hydrolysis by the ruminal microflora. In: ANNUAL RUMINANT NUTRITION CONFERENCE, 31., 1990. Washington, The Journal of Nutrition, Bethesda, v.122, n.1, p.178-190, 1992.

KOZLOSKI, V. G. Metabolismo microbiano ruminal. In: *Bioquímica dos ruminantes*. 1 ed. Santa Maria: UFMS, 2009, cap. 1, p. 212p.

LANA, R.P., RUSSELL, J.B., VAN AMBURGH, M.E. 1998. The role of pH in regulating ruminal methane and ammonia production. *Journal Animal Science*, 76(8):2190-2196.

LASSEY, K.R. [2007]. Livestock methane emission: From the individual grazing animal through national inventories to the global methane cycle. *Agricultural and Forest Meteorology*, v.142, n.2-4, p.120-132, 2007. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.agrformet.2006.03.028> >. Acesso em: 10 set. 2011.

LENINGHER, A.L., *Princípios de bioquímica*. 6.ed. São Paulo: Savier. 839p. 2006.

LIMA, G.J.M.M. Milho e subprodutos na alimentação animal. In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2001. Anais... Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2001. p.13-32.

LIN, E. C. C. Glycerol utilization and its regulation in mammals. *Annual Review of Biochemistry*, Palo Alto, v. 46, p. 765-766, 1977.

MACHADO; F.S.; RODRÍGUEZ, N.M.; GONÇALVES, L.C. et al. [2011]. Consumo e digestibilidade aparente de silagens de sorgo em diferentes estádios de maturação. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.63, n.6, p.1470-1478, 2011. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352011000600026> >. Acesso em: 05 jan. 2012.

MARTIN, C.; MORGAVI, D.P.; DOREAU, M. [2009]. *Methane mitigation in ruminants: from microbes to the farm scale*. *Animal*, v.4, n.3, p.351-365, 2009. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1017/S1751731109990620> >. Acesso em: 05 set. 2011.

McALLISTER, T.A.; BAE, H.D.; JONES, G.A. et al. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. *Journal of Animal Science*, v.72, n.11, p.3004-3018, 1994.

McALLISTER, T.A.; CHENG, K.J.; OKINE E.K. et al. [1996]. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. *Canadian Journal of Animal Science*, v.76, n.2 p.231-243. 1996. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1016/S0377-8401\(99\)00033-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0377-8401(99)00033-4) >. Acesso em: 04 set. 2011.

McDONALD, P.; HENDERSON, R.; HERON, S.. The Biochemistry of Silage. 2.ed. Marlow: *Chalcombe Publications*, 1991. 340p.

MERTENS, D.R. Using fiber and carbohydrate analyses to formulate dairy rations. In: INFORMATIONAL CONFERENCE WITH DAIRY AND FORAGES INDUSTRIES, 1996, Wisconsin, USA. *Proceedings...* Wisconsin, 1996. p.81-92.

MINSON, D. J. Forage in ruminant nutrition. San Diego, California: *Academic Press Inc*, 1990. 483 p.

MORON, I.R.; TEIXEIRA, J.C.; BUENO FILHO, J.S.S.; PEREZ, J.R.O.; MUNIZ, J.A.; PAIVA, P.C.A.; VILELA, D. Cinética de degradação ruminal da matéria seca de alimentos concentrados e volumosos através das técnicas in vitro e in situ. *Ciência e Agrotecnologia*, v.25, n.5, p.1185-1194. 2001.

MURRAY, R. M.; BRYANT, A. M.; LENG, R. A. [1976]. Rates of production of methane in the rumen and large intestine of sheep. *British Journal of Nutrition*, v. 36, n.1, p.1-14. 1976. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1079/BJN19760053> >. Acesso em: 05 sete2011.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of dairy cattle. 7. ed. rev. *Washington: National Academy*, 2001. 381 p.

NELSON, D.L.; COX, M.M. *Princípios de bioquímica de Lehninger*. 5.ed., Porto Alegre :Artmed, 2011.1273p.

NOCEK, J. E.; TAMMINGA, S. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk and composition. *Journal or Dairy Science*, v.74, p.3598, 1991.

ORSKOV, E.R. Starch digestion and utilization in ruminants. *Journal Dairy Science*, v.63, p.16 24-1633, 1986.

ORTIGUES, I.; PETIT, M.; AGABRIEL, J. et al [1993]. Maintenance requirements in metabolizable energy of adult, nonpregnant, nonlactating charolais cows. *Journal of Animal Science*, v.71, n.7, p.1947-1956. 1993. Disponível em: <http://www.journalofanimalscience.org/content/71/7/1947> >. Acesso em: 12 set. 2011.

PAES, M.C.D. Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho. *Circular Técnica*, EMBRAPA/CNPMS, n.75, P.1-6, 2006.

PAIGE, G. *Variation in the chemical composition of crude glycerin: the knowledge bank at OSU*, 2009. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/1811/37082>>. Acesso em: 10 dezembro. 2012.

PEDREIRA, M. S.; OLIVEIRA, S.G.; BERCHIELLI, T.T.; PRIMAVESI, O. Aspectos relacionados com a emissão de metano de origem ruminal em sistemas de produção de bovinos. *Archives of Veterinary Science*, v. 10, n. 3, p. 24-32, 2005.

POSADA, S.P.; NOGUERA, R.R.; RODRÍGUEZ, N.M. et al. [2011]. Exigências energéticas para gado de corte: conceitos e resultados experimentais em condições tropicais. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, v.24, n.4, p.623-633, 2011. Disponível em:< <http://www.scielo.org.co/pdf/rccp/v24n4/v24n4a07.pdf> >. Acesso em: 23 set. 2011.

POTU, R. B.; ABUGHAZALEH, A. A.; HASTINGS, D. et al. The effects of feeding glycerol on rumen fermentation and bacteria. *Journal of Dairy Science*, v. 92, n. 1, p. 89, 2009.

RAHIB, L.; SRIRAM, G.; HARADA, M. K.; LIAO, J. C.; DIPPLE, K. M. Transcriptomic and network component analysis of glycerol kinase in skeletal muscle using a mouse model of glycerol kinase deficiency. *Molecular Genetics and Metabolism*, Amsterdam, v. 3, n. 1, p. 106-112, Feb. 2009.

REIS, R.B.; SAN EMETERIO, F.; COMBS, D.K. et al. Effects of corn particle size and source on performance of lactating cows fed direct-cut grass-legume forage. *Journal of Dairy Science*, v.84, p.429-441, 2001.

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

RESENDE, K. T., TEIXEIRA, I. A. M. A., FERNANDES, M. H. R. *Metabolismo de energia*. In: Berchielli, T. T., Pires, A. V., Oliveira, S. G. Nutrição de ruminantes. Jaboticabal: FUNEP. p.111-140. 2006.

RICO, D. E.; CHUNG, Y. H.; MARTINEZ, C. M. et al. Effects of replacing starch or sugar with glycerin in diets for dairy cows on production and blood metabolites. *Journal of Dairy Science*, v. 92, n. 1, p. 87, 2009.

RODRIGUES, M. T.; VIEIRA, R. A. M. *Metodologias aplicadas ao fracionamento de alimentos*. In: Berchielli, T.T.; Pires, A.V.; Oliveira, S.G. Nutrição de ruminantes. Jaboticabal: FUNEP. p.25-55. 2006.

ROMÁN, D. C. S. *Glicerina Bruta E Ureia De Liberação Lenta Na Alimentação De Bovinos De Corte* "Tese apresentada, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor Em Zootecnia, no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração: Produção Animal." MARINGÁ Estado do Paraná 2011

ROONEY, L.W., PFLUGFELDER, R.L. Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. *Journal Animal Science* v.63. p.1607-1623,1986.

RUSSEL, J. B.; HESPELL, R. B. Microbial rumen fermentation. *Journal of Animal Science*, v.64, p. 1153-1161, 1981.

SAN EMETERIO, F.; REIS, R.B.; CAMPOS, W.E. et al. Effect of coarse or fine grinding on utilization of dry or ensiled corn by lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.83, p.2939-2848, 2000.

SHIN, J. H.; KIM, S. C.; WANG, D. et al. Glycerol supplementation for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 92, n. 1, p. 88, 2009. Abstract.

SINGH, J.; A. DARTOIS AND L. KAUR, Starch digestibility in food matrix: A review, *Trends in Food Science and Technology* 21 (4) (2010), pp. 168–180.

SILVA, P.R.F.; FREITAS, T.F.S. Biodiesel: o ônus e o bônus de produzir combustível. *Ciência Rural*, v. 38, n. 3, p. 843-851, 2008

TAMMINGA, S., WILLIAMS, B.A., In vitro techniques as tools to predict nutrient supply in ruminants. In: In vitro techniques for measuring nutrient supply to ruminants, nº 22, 1998, Edinburgh. *Proceedings...* Edinburgh:BSAS, p.1-11, 1998.

TESTER, R.F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch–composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, v. 39, p. 151-165, 2004.

THEURER, C.B. Grain processing effects on starch utilization by ruminants. *Journal of Animal Science*, v.63, n.5, p.1649- 1662, 1986.

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.

USEPA – *United States Environmental Protection Agency*. Evaluating Ruminant Livestock Efficiency Projects and Programs. In: PEER review draft. Washington: Environmental Protection Agency, 2000. 48p.

VALADARES FILHO, S.C., PINA, D.S. Fermentação Ruminal. In: BERCHIELLI, T.T., PIRES, A.V., OLIVEIRA, S.G. *Nutrição de Ruminantes*. Jaboticabal: Funep, p.151-182, 583p., 2006.

VALDÉS, C.; CARRO, M.D.; RANILLA, M.J. et al. [2000]. Effect of forage to concentrate ratio in complete diets offered to sheep on voluntary food intake and some digestive parameters. *Animal Science*, v.70, n.1, p.119-126, 2000. Disponível em: < http://www.bsas.org.uk/downloads/Vol70Part1_Feb_2000.pdf >. Acesso em: 20 set. 2011.

VAN SOEST, P. J. *Nutritional Ecology of the Ruminant*. Comstock Publ. Assoc. Ithaca, 1994. 476p.

WANG, C.; LIU, Q.; YANG, W. Z.; DONG, K. H.; HUANG, Y. X.; GUO, G. Effects of glycerol on rumen fermentation, urinary excretion of purine derivatives and feed digestibility in steers. *Livestock Science*, Amsterdam, v. 121, n. 1, p. 15-20, May 2009.

WEBER, F.H.; COLLARES-QUEIROZ, F.P.; CHANG, Y.K. Caracterização físico-química, reológica, morfológica e térmica dos amidos de milho normal, ceroso e com alto teor de amilose. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 29, n. 4, p. 748- 753, 2009.

WILLIAMS, A.G.; COLEMAN, G.S. The rumen protozoa. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Eds.). 2.ed. *The rumen microbial ecosystem*. London: *Blackie Academic & Professional*, 1997. p.73-139.

WOLIN, M. J.; MILLER, T.L.; STEWART, C.S. Microbe-microbe interactions. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. *The rumen microbial ecosystem*. London: *Blackie Academic & Professional*. p.467-491. 1997.

ZACARONI, O.F. *Resposta de vacas leiteiras a substituição de milho por glicerina bruta*. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2010.

ZINN, R.A.; OWENS, F.N.; WARE, R.A. Flaking corn: processing mechanics, quality standards, and impacts on energy availability and performance of feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, Savoy, v. 80, p. 1145-1156, 2002.

Capítulo III

Glicerina bruta na dieta de vacas leiteiras: consumo, ambiente ruminal, digestibilidade, produção e composição do leite.

RESUMO: Foram avaliados o uso da glicerina em substituição ao milho ou ao milho expandido na dieta sobre o consumo de matéria seca (CMS), o ambiente ruminal, a digestibilidade, a produção e a composição do leite e o metabolismo de compostos nitrogenados. Vacas multíparas da raça Holandês (n=12) foram distribuídas num arranjo fatorial 2 x 2 (dois tipos de processamento do milho x dois níveis de glicerina) (quadrado latino com três repetições). Os quatro tratamentos foram (MM - milho moído, ME - milho expandido, MMG - milho moído + glicerina e MEG - milho expandido + glicerina). Os valores de CMS, em gramas por quilograma de peso metabólico foram MM =197,0 g/PM/dia, ME= 190 g/PM/dia, MMG=210 g/PM/dia e MEG=190 g/PM/dia e não se observou diferença significativa entre os CMS ($p>0,05$). Também não foram verificadas diferenças significativas quando a produção de leite (MM =22,69 L/dia, ME= 24,34 L/dia, MMG=24,31 L/dia, e MEG=24,65 L/dia), teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais no leite ($p>0,05$), mas os valores de uréia no leite (MM=19,95 mg/dL, ME=16,91 mg/dL, MMG=15,52 mg/dL, e MEG=14,64 mg/dL) foram menores nos tratamentos com adição de glicerina ($p<0,05$). A produção de ácidos graxos de cadeia curta variaram no intervalo estudado e as concentrações de acetato, de propionato e de butirato não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$). Não foram observadas diferenças significativas ($p>0,05$) nas concentrações da glicose plasmática entre os tratamentos. A concentração de nitrogênio uréico no plasma não diferiu significativamente ($p>0,05$) entre os tratamentos. Não foram observadas diferenças significativas ($p>0,05$) nas concentrações de nitrogênio amoniacal. Não foram observadas diferenças significativas ($p>0,05$) nas concentrações de nitrogênio ureico na urina (MM= 51,9 mMol/dia, ME=53,2 mMol/dia, MMG=52,5 mMol/dia, MEG=52,4 mMol/dia. Não foram observadas diferenças significativas ($p>0,05$) nas concentrações de derivados de purina (MM= 174 mMol/dia, ME=187,2 mMol/dia, MMG=190,08 mMol/dia, MEG= 169,1 mMol/dia). Não foram observadas diferenças significativas ($p>0,05$) nas concentrações de purina absorvidas (MM= 176,24 mMol/dia, ME= 195,96 mMol/dia, MMG=197,97 mMol/dia, MEG= 170,06 mMol/dia). Não foram

observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) nas concentrações de nitrogênio microbiano (MM= 110 mMol/dia, ME=123,33 mMol/dia, MMG= 124,59 mMol/dia, MEG=107,03 mMol/dia). A substituição do milho por milho expandido ou por 5% MS de glicerina é possível, sem grandes alterações nas variáveis estudadas.

Palavras chaves: ácidos graxos; glicerol; pH ruminal

3.1 Introdução

O amido é o principal carboidrato encontrado nos grãos utilizados na alimentação dos animais, podendo ser substituído por outras fontes de energia como é o caso do glicerol presente na glicerina bruta de origem vegetal. O uso de glicerina em substituição ao milho se justifica em virtude do seu maior aporte de glicose e por apresentar valor energético similar ao do amido do milho (Schröder e Südekum, 1999). A fermentação ruminal varia quanto ao tipo da forragem (Shin *et al.*, 2009), teor de inclusão e da pureza da glicerina utilizada na dieta (Schröder e Südekum, 1999). O consumo de alimentos é o principal determinante do ingresso de nutrientes para o atendimento das exigências dos animais.

As proteínas são fontes de aminoácidos, componentes essenciais de todas as dietas. A maior parte dos aminoácidos absorvidos pelos ruminantes é proveniente da proteína microbiana sintetizada no rúmen e em menor quantidade da proteína dietética não degradada no rúmen. Nolan (1993) concluiu que a taxa de degradação de carboidratos, as fontes de compostos nitrogenados no rúmen (amônia, peptídeos, aminoácidos), o enxofre presente na dieta e a frequência de alimentação são fatores que podem afetar o crescimento e a síntese de proteína microbiana. Portanto, é fundamental o conhecimento da produção de proteína microbiana. Diversos métodos empregados na estimativa da quantidade de compostos nitrogenados microbianos baseiam-se em marcadores microbianos. Como o uso dos derivados de purina para estimar a síntese microbiana no rúmen. Os derivados de purina excretados podem ser de origem endógena, proveniente do catabolismo dos ácidos nucléicos do animal (estimado em função do peso deste) ou derivados da degradação das purinas microbianas absorvidas.

Quando a velocidade de síntese da amônia pelos microrganismos supera a sua utilização, há uma elevação das concentrações de NH_3 no rúmen, aumentando a excreção de compostos nitrogenados e o custo energético da produção de uréia, resultando em perda de nitrogênio

(Morrison e Mackie, 1996). Durante esses períodos de alta disponibilidade ruminal de N, observam-se elevadas concentrações sanguíneas de uréia. Os teores de nitrogênio uréico no soro ou no plasma e nitrogênio uréico no leite têm sido utilizados para obtenção de informações adicionais sobre o perfil da nutrição protéica de ruminantes, envolvendo a resposta metabólica destes animais a determinada dieta. Evitam-se assim as perdas econômicas advindas do fornecimento inadequado de proteína na dieta e os possíveis prejuízos produtivos, reprodutivos e ambientais.

Objetivou-se com este experimento foi avaliar o uso da glicerina na substituição do milho ou do milho expandido na dieta de vacas leiteiras e suas implicações sobre o consumo, os parâmetros da fermentação ruminal, a digestibilidade dos nutrientes, o metabolismo de compostos nitrogenados e a produção e a composição do leite.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Animais, local e manejo

Doze vacas da raça Holandês, de segunda e terceira ordens de parição, peso médio de 550 kg, escore da condição corporal de 2,5, produzindo 20 kg de leite (no momento de formação dos lotes), no terço médio de lactação, foram alocadas em um sistema “Tie-stall”, onde havia disponibilidade de água e mistura mineral. O experimento foi realizado entre novembro de 2011 e março de 2012 e foi aprovado pelo Comitê de ética em experimentação Animal (CETEA/UFMG) Protocolo CETEA 071/10.

As dietas experimentais (Tabela 2) foram formuladas para serem isoproteicas, com objetivo de atender às exigências estabelecidas pelo NRC (2001) para vaca com 100 dias em lactação, produzindo 20 kg/dia de leite com 3,5% de gordura, sem alteração do peso corporal. As dietas foram fornecidas ad libitum (15% de sobras), duas vezes ao dia, logo após a ordenha da manhã e da tarde, e preparadas na forma de mistura completa, sendo o consumo individual determinado diariamente nos cochos.

A silagem de milho representava 50% da matéria seca oferecida, os outros 50% da matéria seca foi composta pelo concentrado. Os concentrados foram, sem adição de glicerina, milho moido (MM) e milho expandido (ME) (o milho moido foi totalmente substituído pelo milho expandido), com adição de glicerina foram, milho moido + glicerina o milho foi substituído em 10% na matéria natural pela glicerina bruta (MMG) e o milho expandido + glicerina o milho expandido foi substituído em 10% na matéria natural pela glicerina bruta (MEG). A glicerina bruta teve nível de inclusão de 5% na MS.

Durante todo o período experimental, no início de cada semana, amostras da silagem de milho a ser fornecida foram coletadas e seu teor de matéria seca (MS) determinado com auxílio de forno micro-ondas (Modelo Facilite compacto, Consul, Manaus, AM), visando ajustar a relação volumoso:concentrado das duas dietas para 50:50 (com base na MS).

A glicerina bruta utilizada (Tabela 1) foi fornecida pela fábrica de biodiesel da ADM (Archer Daniels Midland Company) Ltda. (Rondonópolis, MT), e obtida a partir do óleo de soja. A glicerina foi misturada junto com os outros ingredientes durante a produção dos concentrados.

Quatro das 12 vacas tinham cânula ruminal e formaram um dos quadrados latinos. Utilizou-se o delineamento em quadrado latino com três repetições, num arranjo fatorial 2 x 2 (dois tipos de processamento do milho x dois níveis de glicerina).

Os quatro períodos experimentais foram de 25 dias sendo 18 dias de adaptação e sete dias de coleta para os quatro tratamentos. Os animais foram pesados e os escores foram avaliados no início e final do período experimental e no início primeiro dia de cada período de coleta sempre após a ordenha da manhã, e antes do fornecimento do trato diário.

Durante cinco primeiros dias de cada um dos três períodos de coletas, foi realizado o experimento de digestibilidade com coleta total de fezes, os consumos individuais foram determinados por diferença entre as quantidades oferecidas das dietas e respectivas sobras. Amostras da silagem de milho, dos suplementos concentrados e das respectivas sobras individuais foram armazenadas a -10°C e, posteriormente, descongeladas, pré-secadas em estufa de ventilação forçada de ar (55°C , 72 h), e moídas em moinho de facas do tipo Willey dotado de peneira com perfurações de 5 mm. Após esse procedimento, as amostras foram compostas (com base na MS) por vaca x período de coletas, novamente moídas (1 mm) e analisadas quanto aos teores de MS a 105°C , proteína bruta (PB) a partir da determinação do conteúdo de nitrogênio (N) pelo método de Kjeldahl (AOAC, 2000) utilizando-se aparelho da marca Büchi para destilação e titulação e frações fibrosas, fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina (LIG), as quais foram determinadas pelo método sequencial de Van Soest et al. (1991), com adição 2 mL de α -amilase termo-resistente, utilizando sacos de tecido não tecido (TNT 100) com dimensões de 4x4 cm no aparelho Fiber analyser ANKOM 220. Os valores de celulose foram obtidos pela diferença entre as frações de FDA, lignina e cinzas insolúveis. Os valores de hemiceluloses foram obtidos pela diferença entre FDN e FDA. O extrato etéreo (EE), conforme métodos descritos por AOAC, (2000) com aparelho Soxhlet. Nestas amostras foram determinadas a

digestibilidade in vitro de MS (DIVMS), segundo Tilley & Terry (1963). O teor de matéria orgânica (MO) foi estimado deduzindo-se o teor de cinzas do valor de MS. Os carboidratos totais (CT) foram estimados segundo a fórmula: $CT = 100 - (\%PB + \%EE + \%cinzas)$ (Sniffen et al, 1992).

As amostras de urina foram analisadas para determinação de nitrogênio total conforme metodologias já mencionadas. A energia bruta foi determinada por bomba calorimétrica (6200 Calorímetro Isoperibol, Parr Instrument Company, Moline, IL).

Os teores de nutrientes digestíveis totais (NDT) calculado de pela seguinte equação: $NDT(\%) = DIVMS + (1,25 * EE) - MM + 1,9$, de acordo com Van Soest (1994). Onde:

DIVMS = digestibilidade in vitro da matéria seca

MM = Cinzas

EE = Extrato etéreo

Nas amostras de silagens determinou-se a digestibilidade in vitro da matéria seca (DIVMS), segundo Holden et al. (1999) utilizando 0,25 g amostra em saquinhos ANKOM F57 e incubados no simulador de rúmen DaisyII Incubator 220 (ANKOM Technology Corp., Fairport, NY). O fluido ruminal foi obtido de 4 vacas holandesas em lactação alimentadas com dieta a base de silagem de milho e suplementadas com 4 kg (base natural) de concentrado (20%PB; 72% NDT; Base MS), em duas refeições iguais às 07:00 e 16:00 h.

Os resultados das análises laboratoriais e os valores dos pesos diários das dietas fornecidas e das respectivas sobras individuais, durante cada um dos três períodos de coleta. Os consumos foram determinados pela diferença entre a quantidade de alimento fornecido aos animais e quantidade de sobras no cocho, em Kg de matéria natural (MN), considerando-se separadamente o teor de matéria seca (%MS) do oferecido e das sobras, foram utilizados para os cálculos dos consumos de matéria seca (CMS), de matéria orgânica (CMO) segundo a equação:

$$CMS = [(Kg \text{ Oferecido (MN)} \times \%MS \text{ Oferecido})/100] - [(Kg \text{ Sobras (MN)} \times \%MS \text{ Sobras})/100]$$

Os consumos de nutriente (proteína bruta, de fibra em detergente neutro, de fibra em detergente ácido, de celulose, de hemiceluloses e de lignina) foram determinados segundo a equação:

$$\text{Consumo} = [(kgOF \times \%OF)/100] - [(kgSB \times \%SB)/100]$$

Onde:

- kgOF = quantidade de dieta oferecida, em kg de MS;
- %OF = concentração do nutriente na dieta oferecida, em % da MS;
- kgSO = quantidade de sobras retiradas, em kg de MS;
- %SO = concentração do nutriente nas sobras, em % da MS.

As ordenhas diárias foram realizadas às 6 e às 14h. Durante cada período, sempre nos primeiros dois dias de cada período de coleta, o leite de cada ordenha foi pesado, e a quantidade de leite do medidor GEA acoplado à ordenhadeira foi homogeneizada e duas amostras foram colhidas. foram coletadas em frascos contendo bronopol® como conservante, amostras representativas da produção individual diária de leite (alíquotas de 2/3 e 1/3, respectivamente nas ordenhas da manhã e da tarde) de cada vaca. Estas amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Qualidade do Leite da Universidade Federal Minas Gerais (Belo Horizonte, MG), sendo analisadas em equipamento Bentley® 2000 (Bentley Instruments Inc., Chaska, Minnesota, EUA) quanto aos teores de gordura, lactose, proteína, extrato seco total e desengordurado, segundo procedimentos da AOAC (2000).

Uma segunda amostragem individual de leite foi realizada conforme descrito anteriormente, porém em frascos sem conservante, destinada à análise do teor de ureia, empregando-se o método enzimático-colorimétrico - urease, e utilizando o kit UREIA CE (LabTest® Diagnóstico SA, Lagoa Santa, MG), sendo os resultados convertidos em teores de nitrogênio ureico no leite (NUL), por meio da multiplicação pelo fator 0,4667. Uma alíquota de 10 mL de leite foi diluída com 5 mL de ácido tricloroacético a 25%, sendo filtrada em papel-filtro e congelada para posterior determinação das concentrações de alantoína no leite desproteínizado segundo o método diacetil modificado utilizando-se kits comerciais (LabTest® Diagnóstico SA, Lagoa Santa, MG) (Valadares et al., 1999).

A produção de leite corrigida para 4,0% de gordura (PLCG 4,0%) foi calculada conforme a equação (NRC, 2001): $PLCG\ 4,0\% = (0,4 * \text{produção de leite}) + 15 * (\text{teor de gordura do leite} / 100) * \text{produção de leite}$.

A Eficiência Alimentar para produção de leite foi calculada da seguinte forma:

kg de leite produzido por dia (não corrigido para 4% de gordura)/kg de MS consumida por dia

No último dia de cada período de coletas, antes do fornecimento das dietas e as 2, 4 e 6 h após a primeira alimentação foram realizadas coletas individuais de sangue na veia ou artéria coccígea de cada vaca, utilizando vacuntainers de capacidade de 5 mL com heparina (Thompson e Christie, 1991). As amostras foram imediatamente centrifugadas não refrigerada a 1000 g a 3.000 x g por 15 minutos, sendo então retiradas alíquotas de plasma, que foram acondicionadas em tubos plásticos de 2,0 mL com tampa (tipo Microtubes MCT-200C - Axygen Scientific, Union City, CA, EUA) e armazenadas a -20°C , para posteriores análises de glicose, realizada pelo método enzimático da glicose oxidase (kit Glicose Synermed, Belo Horizonte, Brasil) e de ureia pelo método enzimático-colorimétrico - urease (kit Ureia CE Synermed, Belo Horizonte, Brasil).

Amostras do conteúdo ruminal foram colhidas no 24^o dia de cada período experimental foram coletados, via cânula ruminal, 150 mL de líquido ruminal para determinação do pH, concentração de N amoniacal (N-NH_3) e de ácidos graxos de cadeia curta. A primeira coleta foi iniciada imediatamente antes do fornecimento da primeira alimentação do dia, sendo esta coletada no tempo 0 e as próximas 2, 4, 6, 8, 10 h após a primeira alimentação. Após cada coleta de líquido ruminal, o pH era medido imediatamente com peagâmetro digital (Digimed DM20). Para análise de nitrogênio amoniacal (N-NH_3), uma alíquota de 50 mL de líquido ruminal foi acidificada com 1 mL de H_2SO_4 (1:1) e armazenado a -20°C , para posterior análise segundo a AOAC (2000). Para análise de ácidos graxos de cadeia curta, outra alíquota de 50 mL de líquido ruminal foi misturado com 10 ml de ácido metafosfórico (25 % p/v) segundo Boyd et al. (2013) , e armazenado a -20°C para posterior análise segundo a AOAC (2000) . Os AGVs foram determinados por cromatografia gasosa utilizando-se um aparelho Shimatzu, com colunas capilares.

No último dia de coleta de cada período experimental amostras de urina foram coletadas para a determinação dos derivados de purina, conforme metodologia descrita por Valadares et al., (1999). Quatro horas após o fornecimento das dietas, a urina foi coletada na forma “spot” (uma amostra por animal). Uma alíquota de 10 mL da urina coletada foi filtrada em gaze, Foram feitas duas amostras: uma em que 10 mL de urina foram diluídos em 40 mL de H_2SO_4 0,036 N, com o intuito manter o pH abaixo de 3, para posteriores análises de alantoína e ácido úrico e outra de 50 mL para análises de creatinina e uréia, ambas armazenadas em frascos plásticos a -15°C .

O volume urinário estimado a partir das amostras spot foi calculado pela excreção média de creatinina, encontrada no experimento, em miligrama por quilo de peso vivo (mg/kg PV), dividida pela concentração na amostra spot de urina.

As concentrações de uréia e creatinina foram estimadas na urina e no plasma sanguíneo utilizando-se kits comerciais (Labtest). As análises de alantoína e de ácido úrico na urina foram feitas pelo método colorimétrico, conforme Fujihara et al. (1987), descrita por Chen e Gomes (1992).

A excreção total de derivados de purina foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretadas na urina, expressas em mmol/dia. As purinas absorvidas em (Y, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purina (X, mmol/dia), por intermédio da equação:

$$Y = X - 0,385PV^{0,75}/0,85$$

em que 0,85 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados de purina e 0,385 PV^{0,75}, a contribuição endógena para a excreção de purinas (Chen e Gomes, 1992).

As purinas microbianas absorvidas (mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas (mmol/dia), por meio da equação purinas microbianas absorvidas = (derivados de purina - 0,236 x PM) / 0,84, em que 0,84 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados de purina e 0,236 x PM, a excreção endógena de derivados de purina (Orellana Boero et al., 2001). Foram avaliadas também as purinas absorvidas, considerando-se a excreção endógena de 0,512 x PM e a recuperação de 0,70 encontradas por Gonzalez- Ronquillo et al. (2003).

A síntese ruminal de compostos nitrogenados (N_{mic}, gN/dia) foi calculada com base nas purinas absorvidas (mmol/dia), utilizando-se a equação (Chen e Gomes, 1992): N_{mic} = (70 x purinas absorvidas) / (0,83 x 0,134 x 1.000), em que 70 é o conteúdo de N nas purinas (mgN/mol); 0,134, a relação N purina: N total nas bactérias (Valadares et al., 1999); e 0,83, a digestibilidade intestinal das purinas microbianas.

Análises laboratoriais

A tabela 1 é apresentada a composição físico-química da glicerina bruta. Na tabela 2 é mostrada a composição centesimal dos concentrados experimentais.

Tabela 1 – Composição físico-química da glicerina bruta utilizada¹

Elementos	Composição
Na % (m/m)	2,00
Densidade a 20°C g/mL	1,26
Cloro % (m/m)	3,03
NaCl % (m/m)	4,99
Ácidos graxos livres (%)	11,14
Umidade % (m/m)	2,00
Cinzas sulfatadas % (m/m)	6,10
pH	4,6
Glicerol % (m/m)	82,58
Metanol % (m/m)	0,003

¹Informado pela indústria.

Tabela 2. Composição centesimal em quilograma (kg) dos concentrados de milho e milho expandido com e sem adição de glicerina bruta

Ingredientes (kg)	CONCENTRADOS			
	Sem glicerina		Com glicerina	
	MM	ME	MMG	MEG
Milho	51,05	-----	38,73	-----
Milho expandido	----	51,05	-----	38,73
Farelo de soja	42,95	42,95	45,27	45,27
Glicerina bruta	-----	-----	10	10
Bicarbonato de sódio	3	3	3	3
Sal mineralizado	3	3	3	3

MM= Milho, ME= milho expandido, MMG= milho moído com glicerina, MEG= milho expandido com glicerina

Análises estatísticas

Foi utilizado o delineamento quadrado latino 4×4 composto por quatro tratamentos e quatro períodos, com um arranjo fatorial 2×2 com dois tipos de processamento do milho e duas substituições por glicerina bruta.

As análises foram feitas no SAS usando o PROC GLM foram feitos os contrastes ortogonais conforme tratamento e também teste de médias, de médias ajustadas e erros padrão associados. Os contrastes dos tratamentos dois a dois prevê a comparação dos fatoriais (efeitos simples e compostos).

Modelo 1 foi utilizado para a análise do consumo, a produção do leite, composição do leite, digestibilidade aparente, volume urinário, excreções de nitrogênio na urina, creatinina, alantoina, ácido úrico, proteínas absorvidas e derivados de purina. Modelo 2 foi utilizado para a análise de AGCC, pH, sangue, glicose plasmático, nitrogênio plasmático e nitrogênio amoniacal e efeitos incluídos de tempo, período e tratamento. Foram testadas interações por hora, tratamento para os dados do rúmen. Tempo da amostra foi incluída como uma medida repetida para o modelo 2. Os modelos foram como se segue:

Modelo 1 = $Y_{ijkl} = \mu + Q_i + T_j + (P/Q)_{ik} + (V/Q)_{il} + Q \times T_{ij} + e_{ijkl}$, sendo:

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

μ = constante geral;

Q_i = efeito do quadrado latino i , sendo $i = 1, 2$ e 3 ; T_j = efeito do tratamento j , sendo $j = 1, 2, 3$ e 4 ;

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

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

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

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

Modelo 2: $Y_{ijklm} = \mu + V_i + P_j + C_k + M_l + CM_{kl} + T_m + CT_{km} + MT_{lm} + CMT_{klm} + e_{ijklm}$, em que: μ = média geral;

V_i = efeito de vaca ($i = 1$ a 4);

P_j = efeito de período

($j = 1$ a 4);

C_k = efeito de processamento ($k =$ milho, milho expandido);

M_l = efeito da glicerina ($l =$ milho + glicerina, milho expandido + glicerina);

CM_{kl} = interação entre processamento e glicerina;

Tm = efeito de tempo após a alimentação (m = 0, 2, 4,6, 8, 10 horas após a alimentação);

CTkm = interação entre processamento e tempo após a alimentação;

MTIm = interação entre glicerina e tempo após a alimentação;

CMTklm = interação entre processamento, glicerina e tempo após a alimentação;

eijklm = erro experimental.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição bromatológica da MS da silagem e dos concentrados experimentais com e sem adição de glicerina bruta oferecida às vacas estão na Tab. 3.

Tabela 3. Composição bromatológica (% MS) e digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) da silagem de milho e dos concentrados experimentais contendo milho e milho expandido, sem e com adição de glicerina bruta.

Forragem e concentrados (% MS)					
	Silagem	Sem glicerina		Com glicerina	
		MM	ME	MMG	MEG
MS	28,37	94,41	91,48	94,55	90,11
MM(% MS)	3,31	6,01	6,03	5,88	5,90
MO(% MS)	25,06	88,4	85,45	88,67	84,21
PB (% MS)	6,58	23,23	18,35	25,74	23,49
EE (% MS)	3,7	4,15	3,22	4,72	3,43
FDN (% MS)	65,21	23,89	21,52	25,86	32,28
FDA (% MS)	52,60	0,78	0,64	0,77	0,60
Hemiceluloses (% MS)	52,61	23,11	20,88	25,09	31,68
Lignina (% MS)	3,08	1,52	1,20	1,04	1,6
CT (% MS)	86,41	66,61	72,4	63,66	67,18
NDT (% MS)	66,22	88,65	87,53	88,01	89,31
DIVMS (% MS)	63,01	87,58	87,64	86,09	89,03

MM= Milho, ME= milho expandido, MMG= milho moído com glicerina, MEG= milho expandido com glicerina. MS = matéria seca, MM = matéria mineral, MO= matéria orgânica, PB = proteína bruta, EE = extrato etéreo, FDN= fibra em detergente neutro, FDA = fibra em detergente neutro, CT = carboidratos totais, NDT= nutrientes digestíveis totais, DIVMS= digestibilidade *in vitro* da matéria seca.

Na Tab. 4 é apresentada a composição bromatológica da MS das dietas experimentais contendo milho e milho expandido, com e sem adição de glicerina bruta oferecida às vacas leiteiras.

Tabela 4. Composição bromatológica (%MS) e digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) das dietas experimentais utilizados na alimentação de vacas leiteiras contendo milho ou milho expandido, sem e com adição de glicerina bruta.

Dietas experimentais (%MS)				
(%MS)	Sem glicerina		Com glicerina	
	MM	ME	MMG	MEG
MS	61,38	59,92	61,46	59,24
MM (% MS)	4,65	4,67	4,61	4,62
MO (% MS)	56,73	55,25	56,85	54,62
PB (% MS)	16,24	16,10	16,45	15,94
EE (% MS)	3,6	3,51	3,25	3,45
FDN (% MS)	44,55	43,36	45,53	48,74
FDA (% MS)	26,24	26,12	26,43	26,70
Hemiceluloses (% MS)	38,41	37,77	40,04	40,84
Celulose (% MS)	19,29	19,30	19,81	19,52
Lignina (% MS)	2,3	2,15	2,01	2,56
CT (% MS)	76,51	79,40	75,03	76,79
NDT (% MS)	77,43	76,87	77,11	77,76
DIVMS (% MS)	75,30	75,33	74,60	76,02

MM= Milho, ME= milho expandido, MMG= milho moído com glicerina, MEG= milho expandido com glicerina. MS= matéria seca, MM = matéria mineral, MO= matéria orgânica, PB = proteína bruta, EE= extrato etéreo, FDN= fibra em detergente neutro, FDA = fibra em detergente neutro, CT = carboidratos totais, NDT= nutrientes digestíveis totais, DIVMS= digestibilidade *in vitro* da matéria seca.

A adição de glicerina líquida ao milho ou ao milho expandido não afetou significativamente ($p>0,05$) os consumos estudados. O consumo de MS (CMS) que foi 20,75 kg/dia para o tratamento MM, de 19,82 kg/dia para o tratamento ME, de 22,27 kg/dia para o tratamento MMG e de 20,75 kg/dia para o tratamento MEG. Os consumos de proteína bruta foram de 3,62 kg/dia para o tratamento MM, de 3,50 kg/dia para o tratamento ME, de 4,05 kg/dia para o tratamento MMG e de 3,59 kg/dia para o tratamento MEG. Os consumos de fibra em detergente neutro foram de 5,60 kg/dia para o tratamento MM, de 6,10 kg/dia para o tratamento ME, de 5,40 kg/dia para o tratamento MMG e de 5,70 kg/dia para o tratamento

MEG, e os consumos de extrato etéreo foram de 0,92 kg/dia para o tratamento MM, de 0,87 kg/dia para o tratamento ME, de 0,90 kg/dia para o tratamento MMG e de 0,93 kg/dia para o tratamento MEG ($p>0,05$; tab.5).

Boyd *et al.* (2013) trabalhando com seis vacas da raça holandês avaliaram os efeitos da substituição de milho na dieta por glicerol. As dietas utilizadas por esse autores foram silagem de milho e os concentrados foram 0 g de glicerol/d, 200 g de glicerol/d, e 400 g de glicerol/d. Os CMS encontrados por esses autores apresentaram diferenças significativas ($p<0,05$) diminuindo à medida que a quantidade de glicerol aumentou sendo de 24,3 kg/d CMS para o tratamento com 0 g de glicerol / d, de 23,1 kg/d CMS para o tratamento com 200 g de glicerol / d e de 23,4 kg/d CMS para o tratamento de 400 g de glicerol / d. Para os CFDN (7,8 kg/d (0 g de glicerol/d), 7,4 Kg/d (200 g de glicerol/d) e de 7,5 kg/d (400 g de glicerol/d)) e o CPB (3,5 kg/d (0 g de glicerol/d), 3,1 Kg/d (200 g de glicerol/d) e de 3,1 kg/d (400 g de glicerol/d)) não houve diferença significativa ($p>0,05$).

Já San Vito (2010) trabalhando com 12 vacas da raça Holandes, avaliou o efeito da substituição do milho pela glicerina bruta, com 0, 7, 14 e 21% de inclusão de glicerina na base da MS. Os animais receberam dieta na proporção de 50:50 em volumoso e concentrado, com base da MS. Utilizou-se silagem de milho como fonte exclusiva de volumoso. O CMS (0% glicerina=21,58 kg/dia, 7% glicerina=20,53kg/dia), o CPB (0% glicerina=3,61 kg/dia, 7% glicerina=3,46 kg/dia) e o CFDN (0% glicerina=8,24 kg/dia, 7% glicerina=7,40 kg/dia) foram reduzidos ($P<0,05$) a partir de 7% de substituição de milho por glicerina bruta na dieta. O CEE (0% glicerina=0,67 kg/dia, 7% glicerina=0,68 kg/dia) aumentou ($P<0,05$) a partir do nível de 14% de substituição.

Os CMS desse experimento quando comparados aos CMS encontrados por Boyd et al. (2013), foram menores porem próximos aos encontrados por San vito (2010), como nesse experimento utilizou-se maior quantidade de glicerol (0,825gramas/dia) que a utilizada pelos primeiros autores condizendo com que foi encontrado por eles. O CPB no atual experimento foi maior que os encontrados por Boyd et al. (2013) e próximos aos encontrados por San vito (2010).O CFDN foram menores que os encontrados por Boyd et al. (2013) e próximos aos encontrados por San vito (2010). O CEE deste experimento foi maior que os encontrados por San vito (2010), todavia, pode-se dizer que o consumo de energia pelos animais se manteve constante, corroborando com os estudos de Schröder e Südekum (1999), que utilizaram 10% glicerol em base da MS na alimentação de gado leiteiro, substituindo efetivamente mais da metade do amido na dieta, sem comprometer ou

afetar o consumo e a digestibilidade ruminal, síntese microbiana ruminal e digestibilidade total dos nutrientes em novilhos. A falta de significância ($P>0,10$) para os valores energéticos estimados em dietas de vacas lactantes recebendo até 15% de glicerol (99,5% de glicerol) em substituição ao milho grão é reportada por Donkin e Doane (2007) ao substituírem 0, 5, 10 e 15% do milho da dieta de vacas em lactação por uma mistura de glicerina:glúten de milho (6,25:1). Estes resultados indicam que o milho pode ser substituído por glicerol sem ajustes para o teor de energia.

Tabela 5. Valores médios de consumo de matéria seca (CMS), de extrato etéreo (CEE), de proteína bruta (CPB) e de fibra em detergente neutro (CFDN) em quilo por dia (kg/dia), em porcentagem de peso vivo (%PV) e em porcentagem de peso metabólico (%PM) para vacas leiteiras alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido sem e com adição de glicerina bruta.

Tratamentos									
Item	Sem glicerina		Com glicerina		EPM	Contraste			EE
	MM (1)	ME (2)	MMG(3)	MEG(4)		(1-2)	(3-4)	(1+2)-(3+4)	
CMS(kg/dia)	20,75	19,82	22,27	20,75	0,94	NS	NS	NS	1,33
CFDN(kg/dia)	5,60	6,10	5,40	5,70	0,58	NS	NS	NS	0,82
CPB(kg/dia)	3,62	3,50	4,05	3,59	0,13	NS	NS	NS	0,19
CEE(kg/dia)	0,92	0,87	0,90	0,93	0,03	NS	NS	NS	0,04
Consumo g/kg peso corporal									
CMS (%PV)	41,76	39,54	44,06	41,02	0,06	NS	NS	NS	0,41
CFDN(%PV)	11,26	12,16	10,68	11,26	0,04	NS	NS	NS	0,53
CMS (%PM)	197,1	190,0	210,0	190,0	0,3	NS	NS	NS	0,80
CFDN(%PM)	52,86	57,57	50,65	53,43	0,4	NS	NS	NS	0,33
PV (kg)	496,9	501,3	505,5	505,9	3,9	NS	NS	NS	5,51

MM= Milho, ME= milho expandido, MMG= milho moído com glicerina, MEG= milho expandido com glicerina, PV= peso vivo, PM= peso metabólico ($PV^{0,75}$)

Os pesos vivos médios dos animais no início de cada período de coleta de dados não diferiram significativamente (Tab. 5, $p>0,05$) entre os tratamentos (MM=496,9 kg, ME=501,3 kg, MMG=505,5 kg, MEG=505,9 kg). Os consumos de MS, PB e NDT foram suficientes para atender as exigências em todos os tratamentos (tab. 6), o que pode ter

influenciado na não diferença significativa ($p>0,05$) dos pesos vivos dos animais. San Vito (2010) também não observou diferença significativa ($p>0,05$) no peso vivo dos animais quando substituiu milho grão por glicerina bruta, assim como ocorrido nesse experimento.

Tabela 6. Valores observados e exigências de matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e nutrientes digestíveis totais (NDT) em quilo por dia (kg/dia) segundo o NRC (2001), de vacas lactantes com 550 kg de peso corporal, com 24 semanas de lactação, produzindo 25 kg/dia com 3,5% de gordura

Item	Exigências	Tratamentos			
		Sem glicerina		Com glicerina	
		MM	ME	MMG	MEG
CMS (kg/dia)	18,2	20,75	19,82	22,27	20,75
Diferença		2,55	1,62	4,07	2,55
PB (kg/dia)	2,9	3,62	3,50	4,05	3,59
Diferença		0,72	0,60	1,15	0,69
NDT (kg/dia)	11,3	14,21	13,65	14,78	13,87
Diferença		2,91	2,35	3,48	2,57

MM= Milho, ME= milho expandido, MMG= milho moído com glicerina, MEG= milho expandido com glicerina

A produção diária de leite (MM=22,69 kg/dia, ME=24,34 kg/dia, MMG=24,31 kg/dia, MEG=24,65 kg/dia), e a produção de leite corrigida para 4% de gordura (MM=23,61 kg/dia, ME=26,72 kg/dia, MMG=26,17 kg/dia, MEG=26,13 kg/dia), não diferiram significativamente ($p>0,05$) entre os tratamentos (Tab. 7). Também não foram observadas diferenças significativas ($p>0,05$) entre os tratamentos quanto aos teores de gordura (MM= 4,28%, ME=4,65%, MMG=4,51%, MEG=4,4%), de proteína (MM=3,05%, ME=3,10%, MMG=3,14%, MEG=3,18%), de lactose (MM=4,41%, ME=4,41%, MMG=4,31%, MEG=4,35%), de extrato seco desengordurado (MM=8,36%, ME=8,41%, MMG=8,36%, MEG=8,43%) e de sólidos (MM=12,64%, ME=13,07%, MMG=12,88%, MEG=12,84%).

San vito (2010) não encontrou diferença significativa ($P<0,05$) para a produção de leite (0% glicerina=31,14 kg/dia, 7% glicerina=29,77 kg/dia, 14% glicerina=28,42 kg/dia), produção de leite corrigida para 3,5% de gordura e para a composição do leite dos animais até o nível de substituição do milho grão pela glicerina bruta de 14% na MS ($P>0,05$).

No presente experimento a quantidade de uréia no leite (NUL) diferiu significativamente ($p<0,05$) entre os tratamentos (MM=19,57 mg/dL, ME=16,91 mg/dL, MMG=15,99 mg/dL, MEG=14,66 mg/dL). Nos tratamentos de MM, ME e MMG as concentrações de NUL foram semelhantes e maiores que no tratamento de MEG, porem os tratamentos com adição de glicerina (MMG e MEG) também foram semelhantes ao tratamento ME.

Tabela 7. Valores médios de produção em quilo por dia (kg/d) e da composição de leite em porcentagem do leite produzido (%) de vacas leiteiras alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido sem e com adição glicerina bruta.

Item	Tratamentos								EE
	Sem glicerina		Com glicerina		EPM	Contraste			
	MM (1)	ME (2)	MMG(3)	MEG(4)		(1-2)	(3-4)	(1+2)-(3+4)	
Leite (kg/d)	22,69	24,34	24,31	24,65	0,69	NS	NS	NS	0,98
Leite corrigido (4%) kg	23,61	26,72	26,17	26,13	1,23	NS	NS	NS	0,55
Gordura %	4,28	4,65	4,51	4,4	0,11	NS	NS	NS	0,25
Proteína %	3,05	3,10	3,14	3,18	0,13	NS	NS	NS	0,03
Lactose %	4,41	4,41	4,31	4,35	0,09	NS	NS	0,01	0,02
Sólidos totais %	12,64	13,07	12,88	12,84	0,42	NS	NS	NS	0,24
ESD %	8,36	8,41	8,36	8,43	0,09	NS	NS	NS	0,04
N-ureico (mg/dl)	19,6a	16,9ab	15,9ab	14,6b	1,00	NS	NS	0,01	0,71
PLC/CMS'	1,09	1,22	1,09	1,18	0,21	NS	NS	NS	0,01

MM= Milho, ME= milho expandido, MMG= milho moído com glicerina, MEG= milho expandido com glicerina ESD= Extrato seco desengordurado, ¹ Produção diária de leite/consumo diário de MS. Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem ($p<0,05$) entre si, pelo teste SNK. EE= Erro Estimado, EPM= Erro Padrão da Média.

Donkin e Doane (2007), encontraram redução da concentração de NUL com adição de glicerina (0% glicerina=12,5 mg/dL, 5% glicerina=10,9 mg/dL), porem não encontraram efeito na produção e na composição do leite de vacas alimentadas com teores de até 15% de glicerol substituindo o milho nas dietas, em base da MS. O comportamento do NUL encontrado por esses autores é semelhante ao do presente experimento porem os valores encontrados nesse experimento são numericamente maiores que os encontrados por Donkin

e Doane (2007), mostrando melhor uso da proteína pelos microorganismos ruminais no trabalho desses autores quando comparado com o presente experimento. Quanto à maior concentração de NUL das vacas do tratamento com milho seria indicação que o uso de glicerina possivelmente tenha melhorado a utilização do nitrogênio pelas bactérias no rumen. As concentrações de NUL encontram-se dentro da faixa considerada adequada por Ferguson, (2001) de balanceamento de energia e proteína, de 10 a 17 mg/dL.

Os valores da produção de leite dividida pelo CMS foi usado para determinar a eficiência alimentar, a qual não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos (MM=1,09, ME=1,22, MMG=1,09, MEG=1,18). San vito (2010) não encontrou diferença ($p < 0,05$) eficiência alimentar (Produção de leite/CMS) (0% glicerina=1,46, 7% glicerina=1,52, 14% glicerina=1,50) dos animais até o nível de substituição do milho grão pela glicerina bruta de 14% na MS ($P > 0,05$). Donkin e Doane (2007) encontraram eficiências alimentares de 0% glicerina= 1,56 e 5% de glicerina= 1,52, esses autores não encontraram diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos. A eficiência alimentar encontrada por Boyd et al. (2013) foi de 1,55 (0 g de glicerol/d), 1,60 (200 g de glicerol/d) e de 1,51 (400 g de glicerol/d). Os valores de eficiência alimentar encontrados nesse experimento foram menores que os encontrados pelos autores citados acima, porém tanto a substituição de milho por milho expandido ou por glicerina não afetou a eficiência alimentar dos animais.

Os valores de médios gerais de pH diferiram significativamente ($p > 0,05$) entre os tratamentos (MM=5,88, ME=5,93, MMG=5,96, MEG=5,85) (tab.8). O tratamento com menor pH foi o MEG e os maiores pHs foram observados nos tratamentos ME e MEG. Porém não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos nos diversos tempos estudados. Boyd et al. (2013) observaram valores de pH de 6,1 (0 g de glicerol/d), 6,0 (200 g de glicerol/d) e de 6,1 (400 g de glicerol/d) valores maiores que os encontrados nesse experimento. Silva, (2011) avaliou o efeito da inclusão de 0, 15 e 30% de glicerina bruta na MS de dietas em substituição ao milho grão moído os valores de pH ruminal encontrados por esse autor não diferiram com 12 h após a primeira alimentação e foram 5,38, 5,62 e 5,79 respectivamente para 0, 15 e 30% de adição de glicerina. Valores esses próximos aos encontrados nesse experimento. Contudo a variação do pH ao longo do dia apresentou-se com valores menores na dieta controle (0%), com maior teor de amido, o que também foi observado nesse experimento nos períodos de 4, 6, 8, e 10 h após a alimentação. A queda mais acentuada de pH (Fig. 1; $p > 0,05$), foi entre o período antes da alimentação até 2 horas

após a primeira alimentação e no tratamento MEG. Porém os animais não apresentaram acidose clínica nem subclínica.

Tabela 8. Valores médios de pH ruminal de vacas leiteiras alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido sem e com glicerina bruta.

Tratamentos									
Item	Sem glicerina		Com glicerina		EPM	Contraste			EE
	MM (1)	ME (2)	MMG(3)	MEG(4)		(1-2)	(3-4)	(1+2)-(3+4)	
pH	5,88bc	5,93ab	5,96a	5,85c	0,01	NS	0,03	NS	0,05
Em relação à primeira alimentação									
Antes	6,21	6,19	6,24	6,13	0,10	NS	NS	NS	0,04
2 horas	5,94	5,91	5,77	5,73	0,06	NS	NS	NS	0,02
4 horas	5,75	5,83	5,89	5,74	0,70	NS	NS	NS	0,04
6 horas	5,75	5,97	5,87	5,70	0,40	NS	NS	NS	0,10
8 horas	5,9	5,92	6,15	5,90	0,20	NS	NS	NS	0,6
10 horas	5,72	5,80	5,87	5,93	0,10	NS	NS	NS	0,07

MM= Milho, ME= milho expandido, MMG= milho moído com glicerina, MEG= milho expandido com glicerina. Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem ($p < 0,05$) entre si, pelo teste SNK. EE= Erro Estimado, EPM= Erro Padrão da Média.

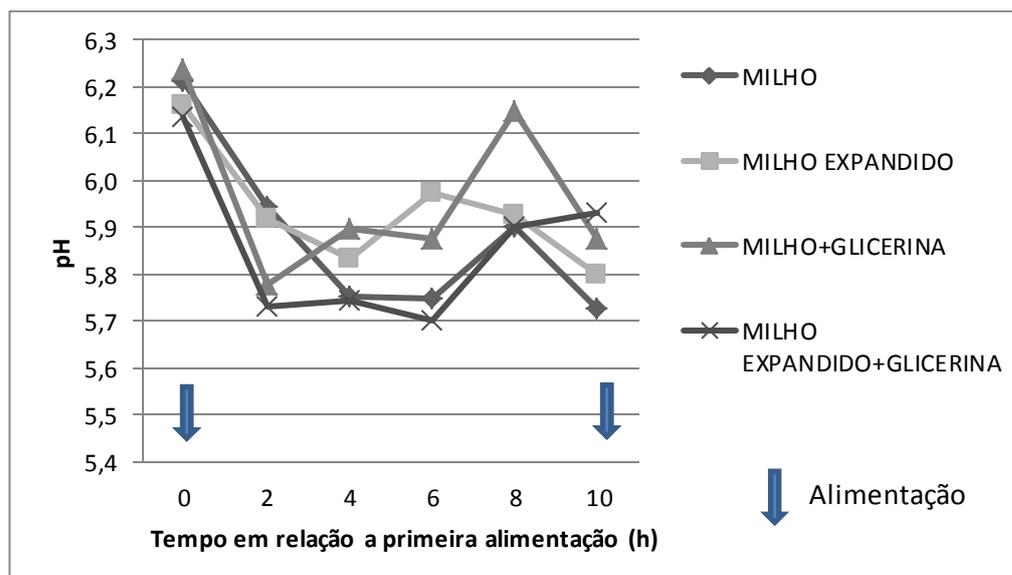


Figura 1. Valores de pH no líquido ruminal em diferentes horários em relação à primeira oferta de alimento, para vacas leiteiras alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido sem e com adição de glicerina bruta.

As concentrações de AGCC e a relação acetato:propionato não apresentaram diferenças significativas ($P>0,05$) entre os tratamentos (Tab. 9). As concentrações de AGCC variaram no intervalo estudado e as concentrações de acetato foram de 58 a 114 mMol/L para o tratamento de MM, de 69 a 95 mMol/L para o tratamento de ME, de 46 a 76 mMol/L para o tratamento de MMG, de 61 a 109 mMol/L para o tratamento de MMG. As concentrações de propionato foram de 17 a 33 mMol/L para o tratamento de MM, de 19 a 29 mMol/L para o tratamento de ME, de 18 a 29 mMol/L para o tratamento de MMG, de 22 a 34 mMol/L para o tratamento de MMG. As concentrações de butirato foram 5,3 a 11,4 mMol/L para o tratamento de MM, de 5,5 a 7,6 mMol/L para o tratamento de ME, de 6,3 a 11,8 mMol/L para o tratamento de MMG, de 4,7 a 9,9 mMol/L para o tratamento de MMG (tab.9).

A relação acetato:propionato geral dos tratamentos foi de 3,41 para o tratamento de MM, de 3,42 para o tratamento de ME, de 2,8 para o tratamento de MMG, de 3,23 para o tratamento de MMG. A relação acetato propionato encontrada por Boyd et al (2013) foi 2,7 (0 g de glicerol/d), 2,5 (200 g de glicerol/d) e de 2,3 (400 g de glicerol/d) valores menores que os encontrados nesse experimento.

Wang et al. (2009) trabalhando com 36 vacas leiteiras com os tratamentos controle (sem glicerol), com 100, 200 e 300 g de glicerol por vaca por dia, respectivamente. Observaram alterações nas concentrações de ácidos graxos de cadeia curta, com aumento linear na concentração de propionato e butirato sem afetar os níveis de acetato com o aumento dos

níveis de glicerina (1 a 3% da MS). Os autores ressaltam que a glicerina demonstra uma maior degradabilidade ruminal em relação ao amido, corroborando com Schröder e Südekum (1999) quando observaram uma maior degradabilidade em dietas à base de amido de trigo contendo glicerina. Porém nesse experimento não foi observado esse aumento linear de propionato e butirato como descrito por Wang et al. (2009).

Tabela 9. Valores médios das concentrações de ácidos graxos voláteis em milimol por litro (mMol/L) no líquido ruminal de vacas leiteiras alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido sem e com adição de glicerina bruta.

Acidos graxos	Tratamentos								
	Sem glicerina		Com glicerina			Contraste			EE
Tempo em relação a primeira alimentação	MM	ME	MMG	MEG	EPM	(1-2)	(3-4)	(1+2)-(3+4)	
Acetato (mMol/L)									
Antes	64	95	76	88	0,98	NS	NS	NS	1,39
Duas h depois	79	86	72	109	1,14	NS	NS	NS	1,61
Quatro h depois	64	69	60	67	0,33	NS	NS	NS	0,46
Seis h depois	58	79	59	61	0,57	0,04	NS	NS	0,81
Oito h depois	92	74	46	87	1,02	NS	0,02	NS	1,44
Dez h depois	114	92	71	69	1,82	NS	NS	NS	2,58
Propionato (mMol/L)									
Antes	17	26,8	22	26	0,26	0,04	NS	NS	0,37
Duas h depois	24	26	29	34	0,57	NS	NS	NS	0,80
Quatro h depois	20	26	24	27	0,28	NS	NS	NS	0,39
Seis h depois	18	19	21	22	0,37	NS	NS	NS	0,52
Oito h depois	31	24	18	27	0,22	NS	0,03	NS	0,31
Dez h depois	33	29	29	23	0,27	NS	NS	NS	0,39

Butirato (mMol/L)									
Antes	5,3	5,9	7,2	6,2	0,08	NS	NS	NS	0,07
Duas h depois	7,5	5,9	9,4	9,9	0,06	NS	NS	NS	0,31
Quatro h depois	6,2	5,5	7,6	6,2	0,05	NS	NS	NS	0,21
Seis h depois	6,1	7,6	6,5	4,7	0,20	NS	NS	NS	0,45
Oito h depois	11,4	6,9	6,3	7,4	0,03	NS	NS	NS	0,06
Dez h depois	11,5	7,8	11,8	7,2	0,12	NS	NS	NS	0,08

Tempo em relação à alimentação						
A:P	Antes	Duas h depois	Quatro h depois	Seis h depois	Oito h depois	Dez h depois
MM	3,76	3,33	3,24	3,17	3,00	3,42
ME	3,65	3,31	2,68	4,09	3,08	3,17
MMG	3,45	2,48	2,55	2,84	2,61	2,41
MEG	3,38	3,21	2,49	3,55	3,27	2,99

A:P= acetato propionato MM= Milho, ME= milho expandido, MMG= milho moído com glicerina, MEG= milho expandido com glicerina. EE= Erro Estimado, EPM= Erro Padrão da Média.

Não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) para as concentrações de glicose plasmática entre os tratamentos 59,85 mg/dL (MM), de 57,53 mg/dL (ME), de 56,74 mg/dL (MMG), de 56,98 mg/dL (MMG) (Tab. 10). Boyd et al (2013) estudando as concentrações de glicose plasmática encontrou os seguintes valores 62,7 mg/dL (0 g de glicerol/d), 62,5 mg/dL (200 g de glicerol/d) e de 63,3 mg/dL (400 g de glicerol/d), não observando diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos. Os valores encontrados por esse autores foram mais altos do que os desse experimento.

San vito (2010) estudando a concentração de glicose sanguínea não observou efeito significativo ($P > 0,05$) com a inclusão de glicerina bruta 60,27 mg/dL (0%), de 57,41 mg/dL (7%), de 54,08 mg/dL (14%), de 58,0 mg/dL (21%), como ocorreu nesse experimento os valores das concentrações encontradas por esse autor são próximos aos do presente experimento. Segundo Allen et al. (2009), o propionato é o principal precursor de glicose

para os ruminantes. Nesse experimento não foi observado diferença significativa ($P>0,05$) na produção de propionato. Pode ser esse um dos motivos da ausência de diferença significativa ($P>0,05$) dos níveis de glicose sanguínea entre os tratamentos estudados ($P>0,05$), podendo-se concluir assim, que os níveis energéticos das dietas se mantiveram constantes.

Houve diferença significativa ($p<0,05$) nas concentrações de glicose entre os tempos estudados onde os maiores valores foram observados nos tempos 2 e 6 h após a primeira alimentação. O aumento observado 2 h após a primeira alimentação pode ser devido à maior concentração de precursores de glicose, e o aumento dos valores às 6 h após a primeira alimentação provavelmente ocorreu porque os animais tiveram livre acesso ao alimento durante 24 h, exceto nos períodos em que saíam do *Tie stall* para as ordenhas.

Tabela 10. Valores médios das concentrações de glicose em miligrama por decilitro (mg/dL) de vacas leiteiras alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido sem e com adição de glicerina bruta.

Glicose (mg/ dL)									
Tempo em relação	Tratamentos					Contraste			EE
	Sem glicerina		Com glicerina		EPM	(1-2)	(3-4)	(1+2)-(3+4)	
a primeira alimentação	MM	ME	MMG	MEG					
Glicose (mg/ dL)	59,85	57,53	56,74	56,98	0,93	NS	NS	NS	2,10
Antes	51,3b	49,7b	49,9b	50,0b	0,83	NS	NS	NS	1,48
Duas h depois	65,8a	60,8a	61,8a	61,4a	0,71	NS	NS	NS	1,06
Quatro h depois	54,9b	53,1b	52,5b	53,7b	0,74	NS	NS	NS	1,05
Seis h depois	67,4a	66,6a	62,8a	62,9a	0,81	NS	NS	NS	1,03

MM= Milho, ME= milho expandido, MMG= milho moído com glicerina, MEG= milho expandido com glicerina. Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem ($p<0,05$) entre si, pelo teste SNK. EE= Erro Estimado, EPM= Erro Padrão da Média.

A concentração de nitrogênio uréico no plasma (NUP), não apresentou resposta significativa ($P>0,05$) entre os tratamentos. As concentrações de NUP foram (MM=15,5 mg/dL, ME=15,8 mg/dL, MMG=16,1 mg/dL, MEG=15,2 mg/dL) (Tab. 11). Os valores de NUP encontram-se dentro da faixa considerada adequada de balanceamento de energia e

proteína, de 10 a 17 mg/dL (Ferguson, 2001). Também não houve diferença ($P>0,05$) entre os tratamentos nos tempos estudados.

Tabela 11. Valores médios das concentrações de nitrogênio no plasma em miligrama por decilitro (mg/dL) de vacas leiteiras alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido sem e com adição de glicerina bruta.

Nitrogênio uréico no plasma (NUP) (mg/dL)									
Tempo em relação	Tratamentos								EE
	Sem glicerina		Com glicerina			Contraste			
a primeira alimentação	MM	ME	MMG	MEG	EPM	(1-2)	(3-4)	(1+2)-(3+4)	
NUP (mg/dL)	15,5	15,8	16,1	15,2	0,03	NS	NS	NS	0,90
Antes	17,1	16,7	16,1	15,9	0,04	NS	NS	NS	0,78
Duas h depois	15,2	15,8	16,7	15,2	0,1	NS	NS	NS	0,34
Quatro h depois	14,6	15,5	15,7	14,6	0,8	NS	NS	NS	0,07
Seis h depois	15,1	15,3	15,7	15,1	0,07	NS	NS	NS	0,40

MM= Milho, ME= milho expandido, MMG= milho moído com glicerina, MEG= milho expandido com glicerina. NUL= nitrogênio ureico no plasma. EE= Erro Estimado, EPM= Erro Padrão da Média.

Shin et al. (2009) observaram que o aumento de glicerina reduziu linearmente a concentração de NUP, 16,1, 15,5 e 13,8 mg/dL, nos tratamentos 0, 5 e 10%, respectivamente. San vito (2010) observaram valores de NUP de 17,07 mg/dL (0% glicerol), 15,54 mg/dL (7% de glicerol), 14,85 mg/dL (14% de glicerol) e 15,16 mg/dL (21% de glicerol). Boyd et al (2013) observaram valores de NUP de 21,7 mg/dL (0 g de glicerol/d), 21,8 mg/dL (200 g de glicerol/d) e de 20,5 mg/dL (400 g de glicerol/d).

Os valores de NUP encontrados no presente experimento foram menores que os encontrados por Boyd et al. (2013), mas os valores foram próximos aos encontrados pelos autores Shin et al. (2009) e de San vito (2010).

De acordo com Staples et al. (1993), o NUP não é adequado para determinar o consumo de proteína, mas sim como indicador de proteína não utilizada pelos animais o que indica que grande parte da proteína consumida estava sendo utilizada pelos animais. O teor de NUL é altamente relacionado com o de NUP que, por sua vez, reflete o excesso de proteína

degradável no rúmen como os valores de NUL apresentaram diferença é possível que o excesso de proteína não foi suficiente para alterar o NUP.

A concentração de nitrogênio amoniacal, não apresentou resposta significativa ($P>0,05$) entre os tratamentos e nem entre os diferentes tempos estudados. As concentrações de nitrogênio amoniacal foram (MM= 18,8 mg/dL, ME=16,0 mg/dL, MMG=12,81 mg/dL, MEG=15,77 mg/dL) (Tab. 12).

Tabela 12. Valores médios das concentrações de nitrogênio amoniacal no líquido ruminal em miligrama por decilitro (mg/dL) de vacas leiteiras alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou expandido sem e com adição por glicerina bruta.

Nitrogênio amoniacal (N-NH ₃) (mg/dL)									
Tempo em relação a primeira alimentação	Tratamentos					Contraste			
	Sem glicerina		Com glicerina		EPM	(1-2)	(3-4)	(1+2)-(3+4)	EE
	MM	ME	MMG	MEG					
N-NH₃ (mg/dL)	18,18	16,0	12,81	15,77	0,02	NS	NS	NS	0,23
Antes	19,84	26,4	15,98	19,29	0,30	NS	NS	NS	0,01
Duas h depois	23,42	19,56	16,25	15,30	0,90	NS	NS	NS	0,02
Quatro h depois	19,01	13,50	12,12	14,33	0,24	NS	NS	NS	0,03
Seis h depois	13,78	8,95	8,27	13,23	0,04	NS	NS	NS	0,41
Oito h depois	15,15	14,60	12,12	14,88	0,05	NS	NS	NS	0,03
Dez h depois	17,91	12,95	12,12	17,63	0,06	NS	NS	NS	0,08

MM= Milho, ME= milho expandido, MMG= milho moído com glicerina, MEG= milho expandido com glicerina. NUP= nitrogênio ureico no plasma. EE= Erro Estimado, EPM= Erro Padrão da Média.

Silva (2011) substituindo o amido do milho usando 0, 15 ou 30 % de glicerol oriundo da glicerina bruta na MS das dietas observou redução ($p<0,01$) na concentração de amônia no rumen quando mensurada 12 h após à primeira alimentação do dia (44,0; 28,5 e 28,63 mg/dL), respectivamente. Abo EL-Nor et al., (2010) trabalhando com quatro fermentadores e os tratamentos 0, 36, 72, 108 g glicerol/ kg MS encontraram as seguintes concentrações 9,63 mg/dL (0 g glicerol/ kg MS), 8,53 mg/dL (36 g glicerol/ kg MS), 8,69 mg/dL (72 g glicerol/ kg MS), 9,47 mg/dL (108 g glicerol/ kg MS) já haviam observado redução nas

concentrações de amônia ruminal devido a adição de glicerina nas dietas. De Frain et al. (2004), trabalhando com vacas leiteiras no período pos parto, onde os tratamentos foram de 0,86 de amido de milho, 0,43 amido de milho + 0,43 glicerol, ou 0,86 glicerol, encontraram os seguintes valores de nitrogênio amoniacal de 4,11 mg/dL, 4,66 mg/dL, 5,29 mg/dL respectivamente. Os valores obtidos nesse experimento foram menores que os encontrados por Silva (2011) e maiores que os valores encontrados por Abo EL-Nor et al., (2010) e de De Frain et al. (2004).

O volume urinário, não diferiu significativamente ($P>0,05$) entre os tratamentos estudados. Os volumes foram MM= 21,5 L/dia, ME=21,8 L/dia, MMG=21,36 L/dia, MEG=21,24 L/dia (Tab. 13). Os volumes urinários observados neste experimento foram inferiores aos reportados por Zacaroni (2011), que trabalhando com vacas leiteiras (PL=32,6L/dia) em substituição total de milho maduro finamente moído por glicerina bruta (12,3% MS) foi de 26,6 L/dia. Chizzoti et al. (2007) trabalhando com vacas holandesas alimentadas (16% PB) com silagem de milho a vontade mais 1 kg de concentrado para cada 3 kg de leite produzido, com produções totais de 18,54 L/dia (Media) 32,6 L/dia (alta), encontraram valores de 21,63 e 21,59 L/dia de urina, respectivamente para as produções de leite, valor próximo aos encontrados nesse trabalho.

As concentrações de nitrogênio ureico na urina, não apresentaram diferenças significativas ($P>0,05$) entre os tratamentos estudados. As concentrações de nitrogênio ureico na urina encontrados foram MM= 51,9 mMol/dia, ME=53,2 mMol/dia, MMG=52,5 mMol/dia, MEG=52,4 mMol/dia (Tab. 13).

As concentrações de creatinina, não apresentaram diferenças significativas ($P>0,05$) entre os tratamentos estudados. As concentrações creatinina encontradas foram MM= 51,9 mMol/dia, ME=53,2 mMol/dia, MMG=52,5 mMol/dia, MEG=52,4 mMol/dia (Tab. 13).

As concentrações de alantoina urinária, não apresentaram diferenças significativas ($P>0,05$) entre os tratamentos estudados. As concentrações de alantoina urinária encontradas foram MM=152 mMol/dia, ME=164 mMol/dia, MMG=171 mMol/dia, MEG=147 mMol/dia (Tab. 13). Chizzoti et al. (2007) encontraram valores de alantoina urinária de 268,4 mMol/dia e 323,7 mMol/dia para as produções de média e alta produção de leite, os valores maiores que do presente estudo.

As concentrações de alantoina no leite, não apresentaram diferenças significativas ($P>0,05$) entre os tratamentos estudados. As concentrações de alantoina no leite encontradas foram

MM= 0,56 mMol/dia, ME= 0,64 mMol/dia, MMG=0,59 mMol/dia, MEG=0,69 mMol/dia (Tab. 13). Chizzoti et al. (2007) encontraram valores de alantoina no leite de 0,88 mMol/dia e 1,2 mMol/dia para as produções de média e alta produção de leite, os valores maiores que os encontrados nesse experimento.

As concentrações de alantoina total, não apresentaram diferenças significativas ($P>0,05$) entre os tratamentos estudados. As concentrações de alantoina total encontradas foram MM= 152,6 mMol/dia, ME= 164,6 mMol/dia, MMG=171,6 mMol/dia, MEG=147,7 mMol/dia (Tab. 13). Chizzoti et al. (2007) encontraram valores de alantoina total de 269,28 mMol/dia e 324,82 mMol/dia para as produções de média e alta produção de leite, valores maiores que os encontrados nesse trabalho.

As concentrações de ácido úrico, não apresentaram diferenças significativas ($P>0,05$) entre os tratamentos estudados. As concentrações de ácido úrico encontrados foram MM= 21,4 mMol/dia, ME= 22,6 mMol/dia, MMG= 19,2 mMol/dia, MEG= 22,1 mMol/dia (Tab. 13). Chizzoti et al. (2007) encontraram valores de ácido úrico de 27,75 mMol/dia e 39,28 mMol/dia para as produções de média e alta produção de leite, valores maiores que os desse experimento.

As concentrações de derivados de purina, não apresentaram diferenças significativas ($P>0,05$) entre os tratamentos estudados. As concentrações de derivados de purina encontrados foram MM= 174 mMol/dia, ME=187,2 mMol/dia, MMG=190,08 mMol/dia, MEG= 169,1 mMol/dia (Tab. 13). Chizzoti et al. (2007) encontraram valores de derivados de purina de 364,11 mMol/dia e 297,11 mMol/dia para as produções de média e alta produção de leite, valores maiores que os encontrados nesse experimento.

As concentrações de purina absorvidas, não apresentaram diferenças significativas ($P>0,05$) entre os tratamentos estudados. As concentrações de purina absorvidas encontrados foram MM= 176,24 mMol/dia, ME= 195,96 mMol/dia, MMG=197,97 mMol/dia, MEG= 170,06 mMol/dia (Tab. 13). Chizzoti et al. (2007) encontraram valores de purina absorvida de 316,84 mMol/dia e 395,41 mMol/dia para as produções de média e alta produção de leite, valores maiores que os deste experimento.

Tabela 13. Valores médios dos volumes urinários em litros por dia (L/dia), das concentrações de ureia e nitrogênio urinários em grama por dia (g/dia), creatinina, ácido úrico e alantoina em milimol por dia (mmol/dia) de vacas leiteiras alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido sem e com adição de glicerina bruta.

Item	Tratamentos								
	Sem glicerina		Com glicerina			Contraste			EE
	MM	ME	MMG	MEG	EPM	(1-2)	(3-4)	(1+2)-(3+4)	
Volume urinário (L/dia)	21,5	21,8	21,36	21,24	1,02	NS	NS	NS	0,21
Ureia na urina (g/dia)	112,8	117,5	114,2	119,1	0,93	NS	NS	NS	0,92
N- uréico na urina(g/dia)	51,9	53,2	52,5	52,4	0,87	NS	NS	NS	0,34
Creatinina (mmol/dia)	1,43	1,34	1,38	1,33	0,97	NS	NS	NS	0,54
ALU (mmol/dia)	152	164	171	147	1,03	NS	NS	NS	0,87
Alantoina leite (mmol/dia)	0,56	0,64	0,59	0,69	0,98	NS	NS	NS	0,31
Alantoina total (mmol/dia)	152,6	164,6	171,6	147,7	0,93	NS	NS	NS	0,12
Acido úrico (mmol/dia)	21,4	22,6	19,2	22,1	0,78	NS	NS	NS	0,38
DP (mmol/dia)	174	187,2	190,8	169,1	0,65	NS	NS	NS	0,11
PABs (mmol/dia)	176,24	195,96	197,97	170,06	0,45	NS	NS	NS	0,03

MM= Milho, ME= milho expandido, MMG= milho moído com glicerina, MEG= milho expandido com glicerina. ALU= alantoina urinaria, DP = Derivados de purina, PABs= Purina absorvidas. EE= Erro Estimado, EPM= Erro Padrão da Média.

As concentrações de nitrogênio microbiano, não apresentaram diferenças significativas ($P>0,05$) entre os tratamentos estudados. As concentrações de nitrogênio microbiano encontrados foram MM= 110 mMol/dia, ME=123,33 mMol/dia, MMG= 124,59 mMol/dia, MEG=107,03 mMol/dia (Tab. 13). Chizzoti et al. (2007) encontraram valores de nitrogênio microbiano de 199,42 mMol/dia e 248,8 mMol/dia para as produções de media e alta produção de leite, valores maiores que os deste experimento.

Segundo Russel et al. (1992), as variações na síntese microbiana são associadas a mudanças no suprimento de energia e proteína ao animal hospedeiro, sendo que o fornecimento de energia é o primeiro fator limitante do crescimento microbiano ruminal (Valadares Filho et al., 2010).

A substituição do milho grão pela glicerina bruta não afetou a disponibilidade ruminal de proteína bruta, nem da disponibilidade de energia e de esqueletos de carbono para a síntese

de Nmic nas dietas já que não houve diferença entre os tratamentos ($P>0,05$) para a produção de nitrogênio microbianos. Assim as estimativas de produção de N microbiano no rumen no presente estudo indicam que o glicerol não alterou a síntese da proteína no rúmen.

3.4 Conclusão

O milho expandido é um ingrediente de ração adequado para substituir totalmente o milho moído na ração para vacas leiteiras em lactação. Sem efeitos deletérios sobre o consumo de matéria seca, o ambiente ruminal, a produção de leite e a composição do leite.

O glicerol é um ingrediente alimentar adequado para substituir, em até 5% da matéria seca da dieta, o milho moído na alimentação de vacas leiteiras em lactação. Sem efeitos deletérios sobre o consumo de matéria seca, o ambiente ruminal, a produção de leite e a composição do leite. Porém informações adicionais são necessárias para determinar os efeitos da extensão e duração de alimentação de glicerol sobre o consumo, a produção, e o ambiente ruminal.

3.5 Referências bibliográficas

ABO EL-NOR, S; ABUGHAZALEH, A. A.; POTU, R. B. et al. Effects of differing levels of glycerol on rumen fermentation and bacteria. *Animal Feed Science Technology*, v. 162, p. 99-105, 2010.

ALLEN, M. S., BRADFORD, B. J. Metabolic regulation of feed intake in cattle : a conceptual model . *Journal of Animal Science*. 87 : 3317-3334, 2009.

AOAC International - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – *Official methods of analysis*. 17 ed. Gaithersburg: AOAC, 2000. 2000p.

BOYD J., BERNARD J. K., WEST J. W. Effects of feeding different amounts of supplemental glycerol on ruminal environment and digestibility of lactating dairy cows *Journal Dairy Science* 96 :470–476 2013.

CHEN, X.B.; GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – an overview of technical details. Bucksburnd: Rowett Research Institute; *International Feed Resources Unit*, 1992. 21p. (Occasional publication).

- CHIZZOTTI, M.L., VALADARES FILHO, S.C., VALADARES, R.F.D., et al. Consumo, digestibilidade e excreção de uréia e derivados de purinas em vacas de diferentes níveis de produção de leite. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.36, n.1, p.138-146, 2007
- DEFRAIN, J. M.; HIPPEN, A. R.; KALSCHEUR, K. F.; 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.
- DONKIN, S. S.; DOANE, P. Glycerol as a Feed Ingredient in Dairy Rations. In: THREE-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE, 97., 2007. *Proceedings...* Fort Wayne, IN. 2007.
- FERGUSON, J.D. [2001]. *Milk urea nitrogen*. Disponível em: <http://cahpwww.vet.upenn.edu/mun/mun_info.html>. Acesso: 22/6/2007.
- FUJIHARA, T.; ÆRSKOV, E.R.; REEDS, P.J. et al. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. *Journal of Agricultural Science*, v.109, n.1, p.7-12, 1987.
- GONZALEZ-RONQUILLO, M.; BALCELLS, J.; GUADA, J.A.; VICENTE, F. Purine derivative excretion in dairy cows: Endogenous excretion and the effect of exogenous nucleic acid supply. *Journal of Dairy Science*, v.86, n.4, p.1282-1291, 2003.
- HOLDEN, L.A. Comparison of methods of in vitro dry matter digestibility for ten feeds. *Journal Dairy Science*, 1999. 82: 1791-1794
- MORRISON, M., MACKIE, R.I. Nitrogen metabolism by ruminal microorganisms: current understanding and future perspectives. *Aust. J. Agric. Res.*, 1996, 47(2):227-246.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. *Nutrient requeriments of dairy cattle*. 7.rev.ed. Washington, D.C.:2001. 381p.
- NOLAN, J.V. 1993. Nitrogen kinetics. In: FORBES, J.M., FRANCE, J. (Eds.) Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism. *Wallingford: C.A.B. International*. p.123-143.
- ORELLANA BOERO, P.; BALCELLS, J.; MARTÍN-ORÚE, S.M. et al. Excretion of purine derivates in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. *Livestock Production Science*, v.68, p.243-250, 2001.

RUSSELL, J.B., O'CONNOR, J.D., FOX, D.G. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. I - Ruminal fermentation. *Journal Animal Science*, 1992.70(11):3551- 3561

SAN VITO, E. *Glicerina bruta alimentação de vacas leiteiras*. 2010. 31f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Julho de 2010

SAS INSTITUTE INC. *SAS/STAT User's guide. Version 8*, Cary, NC: SAS Institute Inc., 1999.

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

SHIN, J. H.; KIM, S. C.; WANG, D. et al. Glycerol supplementation for lactating dairy cows. *Journal Dairy Science*, v. 92, n. 1, p. 88, Jan. 2009. Abstract.

SILVA, Z. F. *Digestão e fermentação ruminal em vacas leiteiras recebendo glicerina bruta na dieta*. Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal. Jaboticabal - São Paulo – Brasil, 2011.

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.

STAPLES, C.R.; GARCIA-BOJALIL, C.; OLDICK, B.S. et al. Protein intake and reproductive performance of dairy cows: a review, a suggested mechanism, and blood and milk urea measurements. In: ANUNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPSIUM, 4., 1993, Gainesville. *Proceedings ...* Gainesville: University of Florida, 1993. p.37-52

THOMPSON, G.E.; CHRISTIE, W.W. Extration of plasma triacylglycerols by the mammary gland of the lactating cow. *Journal of Dairy Research*, v.58, p.251-255, 1991.

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.

VALADARES FILHO, S.C.; MACHADO, P.A.S.; CHIZZOTTI, M.L.; AMARAL, H.F.; MAGALHÃES, K.A.; ROCHA JÚNIOR, V.R.; CAPELLE, E.R. *Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos*. 3ed - Viçosa, MG: UFV/DZO, 2010.

VALADARES, R.F.D.; BRODERICK, G.A.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Effect of replacing alfafa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. *Journal of Dairy Science*, v.82, n.12, p.2686-2696, 1999.

VAN SOEST, P.J. Carbohydrates. In: NUTRITIONAL ecology of the ruminant. 2.ed. Ithaca, New York: *Cornell University*, 1991. P.164.

VAN SOEST, P.J. Nutritional ecology of the ruminant. 2.ed. Ithaca: *Cornell University Press*, 1994. 476p

WANG C., LIU Q., YANG W.Z., HU W.J., DONG K.H., et al. Effects of glycerol on lactation performance, energy balance and metabolites in early lactation Holstein dairy cows *Animal Feed Science and Technology* 151 (2009) 12–20

ZACARONI, O. F. *Resposta de vacas leiteiras à substituição de milho por glicerina bruta*. 2010. 43 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

CAPÍTULO IV

Consumo, digestibilidade aparente, metabolismo de nitrogênio e de energia e produção de metano entérico em ovinos alimentados com dietas contendo glicerina bruta

RESUMO: Foram avaliados o uso da glicerina em substituição ao milho ou ao milho expandido na dieta sobre o consumo voluntário, balanço de energia e nitrogênio e a produção de metano de ovinos. Ovelhas múltiparas da raça Santa Inês (n=8) foram distribuídas num arranjo fatorial 2 x 2 (dois tipos de processamento do milho x dois níveis de glicerina) (quadrado latino com três repetições). Os quatro tratamentos foram (MM - milho moído, ME - milho expandido, MMG - milho moído + glicerina e MEG - milho expandido + glicerina). Não se observou diferença de CMS (MM= 1,49 kg/dia, ME= 1,45 kg/dia, MMG= 1,49 kg/dia, MEG= 1,35 kg/dia), PB (MM=0,24 kg/dia, ME=0,25 kg/dia, MMG=0,29 kg/dia, MEG=0,23 kg/dia), de FDN e de FDA ($p>0,05$). As retenções de nitrogênio e os balanços de nitrogênio dos tratamentos foram positivos, e variaram de 24,5 a 35 g/dia, e de 42 a 64% respectivamente e não diferiu significativamente ($p>0,05$). Os consumos de energia bruta, de energia digestível e energia metabolizável não diferiram ($p>0,05$). O consumo de energia líquida também não diferiu significativamente ($p>0,05$) (MM=84,56 kcal/kgPM, ME=104,04 kcal/kgPM, MMG=110,89 kcal/kgPM, MEG=126,26 kcal/kgPM). As perdas de energia nas fezes, na urina, na forma de metano (MM=30,40 kcal/kgPM, ME=20,29 kcal/kgPM, MMG=18 kcal/kgPM, MEG=25,26 kcal/kg PM), na forma de incremento calórico (MM=35,3 kcal/kg PM, ME=33,12 kcal/kg PM, MMG=32,81 kcal/kg PM, MEG=33,95 kcal/kg PM) não diferiram significativamente ($p>0,05$). A metabolizabilidade (MM=0,37 kcal/kcal, ME=0,40 kcal/kcal, MMG=0,42 kcal/kcal, MEG=0,45 kcal/kcal) e a eficiência em conversão de energia metabolizável em energia líquida (MM=70%, ME=75%, MMG=77%, MEG=76%) não diferiu significativamente ($p>0,05$) entre os tratamentos. O consumo de oxigênio, as produções de CO₂ não diferiram significativamente ($p>0,05$). A produção de metano diferiu significativamente ($p<0,05$) (MM=1,73 L/PM, ME=1,4 L/kg PM, MMG=1,93 L/PM, MEG= 1,90 L/PM) para os tratamentos com adição de glicerina e foram as maiores produções. A produção de metano em g/PM diferiu ($P>0,05$) (MM= 1,22 g/PM, ME=1,0 g/PM, MMG=1,37 g/PM,

MEG=1,35 g/PM) entre os tratamentos e os que continham glicerina apresentaram as maiores produções de metano em g/PM.

Palavras chaves: glicerol, processamentos de milho, respirometria, gás do efeito estufa

4.1. Introdução

Na criação intensiva de ruminantes, os gastos com alimentação representam um dos principais componentes do custo de produção, aliado a crescente preocupação mundial com o meio ambiente, juntamente com a busca por fontes de energia renováveis, coloca o biodiesel e seus co-produtos no centro das atenções e interesses.

De acordo com estudos conduzidos na Austrália e Canadá, para cada 1% de acréscimo de gordura na dieta de ruminantes, pode se reduzir em até 6% a quantidade de metano produzido por kg de matéria seca consumida (Grainger, 2007). Assim o conhecimento da composição bromatológica dos alimentos disponíveis no Brasil, possibilita a adoção de medidas de manejo que resultem em maior eficiência alimentar e, conseqüentemente, econômica. O aumento da eficiência na produção animal é determinante para atender a crescente demanda mundial por alimento e mitigar a produção de gases do efeito estufa associados à produção animal, garantindo assim um sistema produtivo mais sustentável. Portanto diferentes estratégias nutricionais têm sido avaliadas como ferramentas para a redução na produção de metano entérico por ruminantes. O metano compromete a eficiência energética alimentar correspondendo a perdas entre 6-11% da energia bruta ingerida de gramíneas tropicais (Primavesi et al., 2004).

No Brasil, as utilizações de volumosos conservados principalmente de capins tropicais vem tendo um grande crescimento nos sistemas produtivos de ruminantes como alternativa prática e eficiente para equilibrar a oferta de volumoso ao longo do ano, a fim de manter a produtividade animal. Além disso, os sistemas atuais de balanceamento de dietas para ruminantes empregam valores de energia metabolizável ou líquida, sendo fundamental a partição da energia dos alimentos para o adequado balanceamento de dietas. A composição química dos alimentos determina o potencial de energia disponível nas ligações químicas dos seus nutrientes. Esse total de energia pode ser mensurado em bombas calorimétricas para obtenção dos valores de energia bruta. Entretanto, depois que o alimento é ingerido, suas propriedades químicas e físicas, como composição, presença de fatores

antinutricionais, tamanho de partícula passam a influenciar a capacidade do animal em extrair a energia potencial presente no mesmo. Assim, tanto as características do alimento, como do animal, bem como o destino do uso da energia, determinarão a eficiência do seu fluxo no organismo.

A intensidade da emissão de metano proveniente da fermentação ruminal depende de diversos fatores como o consumo de matéria seca, digestibilidade da dieta, proporção volumoso concentrado, teor e degradabilidade da fibra. O metano, além de representar uma significativa perda de energia pelos ruminantes, reflete a ineficiência do processo de fermentação ruminal, também é um importante gás de efeito estufa. Há, entretanto, carência de estudos voltados à determinação da emissão de metano por ruminantes alimentados com volumosos tropicais e co-produtos do biodiesel utilizados no Brasil, a qual pode ser fortemente influenciada por fatores como clima, solo, espécie forrageira, entre outros.

O objetivo deste experimento foi avaliar o uso da glicerina bruta em substituição ao milho e ao milho expandido na dieta de ovelhas e suas implicações sobre o consumo, a digestibilidade aparente, metabolismo de nitrogênio e de energia e a produção de metano.

4.2. Material e métodos

O experimento foi conduzido nas dependências do departamento de Zootecnia no Laboratório de Metabolismo e Calorimetria Animal – (LAMACA) da Escola de Veterinária da UFMG, em Belo Horizonte – MG. Foram utilizadas oito ovelhas da raça Santa Inês não prenhes (durante o andamento do experimento um animal veio a óbito sendo considerado para análise estatística sete animais), que foram vermifugadas (Ivomec® Injetável, Base Ivermectina 1%; Merial Saúde Animal Ltda, Campinas), e pesados no início e fim do experimento. Os animais foram alojados individualmente em gaiolas metabólicas suspensas (1,2 m altura x 1,3 m comprimento x 0,60 m largura, piso ripado de madeira) dotadas com fundo metálico em funil e caixas plásticas para recolhimento das fezes e baldes plásticos recobertos com tela para coleta da urina, separadamente. O experimento foi realizado entre abril de 2013 e outubro de 2013 e foi aprovado pelo Comitê de ética em experimentação Animal (CETEA/UFMG) Protocolo CETEA 071/10.

A silagem de milho representava 50% da matéria seca oferecida, os outros 50% da matéria seca foi composta pelo concentrado. Os concentrados foram milho (MM), milho expandido (ME) (o milho foi totalmente substituído pelo milho expandido), milho + glicerina o milho foi substituído em 10% na matéria natural pela glicerina bruta (MMG) e o milho expandido

+ glicerina o milho expandido foi substituído em 10% na matéria natural pela glicerina bruta (MEG).

Os quatro períodos experimentais foram de 25 dias sendo 18 dias de adaptação e sete dias de coleta de dados para os quatro tratamentos. As sobras foram retiradas e pesadas diariamente antes do trato da manhã para que o consumo fosse determinado e monitorado. A quantidade oferecida foi ajustada para proporcionar 15% de sobras configurando o consumo a vontade.

Durante os sete dias de coleta de dados foi realizada o experimento de digestibilidade quando foram coletadas amostras diárias das silagens, do oferecido e das sobras, em duplicata e estocadas a -18°C , e no final dos cinco dias as amostras diárias individuais das sobras (50g), das fezes (100g) e da urina (15%) (foram homogeneizadas) e formaram uma amostra composta por animal. Para coleta da urina utilizou-se 10 mL de ácido sulfúrico 10% (vol:vol) diariamente nos baldes para evitar perdas de nitrogênio e crescimento bacteriano. Todas as amostras compostas foram congeladas a -18°C até análises.

O sistema de calorimetria indireta de circuito aberto para pequenos ruminantes da Escola de Veterinária da UFMG descrito por Rodriguez et al. (2007) foi usado neste estudo, permitindo a mensuração das trocas gasosas de um animal por vez. As dietas foram fornecidas de uma só vez pela manhã imediatamente antes do início das mensurações de troca gasosas do animal alimentado, com disponibilidade constante de água durante todo o período experimental. Os pesos dos animais também foram aferidos nos momentos de entrada e saída da câmara respirométrica, para acompanhar possíveis mudanças de peso.

O experimento de respirometria foi realizado em duas etapas. Em ambas etapas para evitar excesso de amônia no interior da câmara, foi adicionado 100 mL de HCL 2N dentro do balde coletor de urina, situado abaixo da gaiola metabólica. Do lado de fora da câmara também foi colocada uma gaiola metabólica alojando outra ovelha, para evitar o estresse dos animais por isolamento. Na primeira etapa foram mensuradas as trocas gasosas e calculou-se a produção de calor (calorimetria indireta) dos animais alimentados. Na segunda etapa foi calculada a produção de calor das ovelhas em jejum. Nessa etapa após um período de 48 horas em jejum, os animais permaneceram dentro da câmara respirométrica por um período de 24 horas onde receberam apenas água. Após a abertura da câmara, o volume de urina excretado foi mensurado e armazenado.

A glicerina bruta utilizada foi a mesma do capítulo III (pagina 74, tabela 1). A composição centesimal das dietas foram as mesmas utilizada no capítulo III (pagina 74 tabela 2). A composição bromatológica das dietas experimentais com e sem adição de glicerina bruta oferecida às vacas estão na tab. 1.

Tabela 1. Composição bromatológica da silagem de milho e dos concentrados experimentais em porcentagem da matéria seca (%MS) contendo milho e milho expandido, sem e com adição de glicerina bruta.

Forragem e concentrados (% MS)					
	Silagem	Sem glicerina		Com glicerina	
		MM	ME	MMG	MEG
MS	27,37	90,39	90,14	90,56	91,13
MM (%MS)	3,26	6,10	6,23	5,98	5,97
MO (%MS)	24,11	84,29	83,91	84,58	85,16
PB (%MS)	9,42	23,13	21,45	23,77	23,59
EE (%MS)	3,7	4,15	3,22	3,72	3,43
FDN (%MS)	62,12	23,79	22,52	24,56	30,25
FDA (%MS)	51,4	0,88	0,54	0,77	0,62
Hemiceluloses (%MS)	10,72	22,91	21,96	23,79	29,63
Lignina (%MS)	3,10	1,52	1,20	1,04	1,6
CT (%MS)	83,62	66,62	69,1	66,53	67,01

MS = matéria seca, MM = matéria mineral, MO = matéria orgânica, PB = proteína bruta, EE = extrato etéreo, FDN = fibra em detergente neutro, FDA = fibra em detergente ácido, CT = Carboidratos totais = 100 - (%PB + %EE + %cinzas).

Tabela 2. Composição bromatológica das dietas experimentais em porcentagem da matéria seca (%MS) utilizados na alimentação de vacas leiteiras contendo milho ou milho expandido, sem e com adição de glicerina bruta.

	Dietas experimentais (%MS)			
	Sem glicerina		Com glicerina	
	MM	ME	MMG	MEG
MS	58,88	58,75	58,96	59,25
MM (%MS)	4,68	4,74	4,62	4,61
MO (%MS)	54,2	54,01	54,34	54,63
PB (%MS)	16,27	15,43	16,5	16,5
EE (%MS)	3,92	3,46	3,71	3,56
FDN (%MS)	42,95	42,32	43,38	46,18
FDA(%MS)	26,14	25,97	26,08	25,81
Hemiceluloses (%MS)	16,81	16,35	17,30	20,37
Lignina (%MS)	2,26	2,15	2,07	2,35
CT(%MS)	24,87	23,63	24,83	24,67

MM= Milho, ME= milho expandido, MMG= milho moído com glicerina, MEG= milho expandido com glicerina. MS= matéria seca, MM = matéria mineral, MO= matéria orgânica, PB = proteína bruta, EE= extrato etéreo, FDN= fibra em detergente neutro, FDA = fibra em detergente neutro, CT = carboidratos totais, NDT= nutrientes digestíveis totais.

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal da EV-UFMG, em Belo Horizonte. O teor de matéria pré-seca das amostras de oferecidos, sobras e fezes foi determinado em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas. Posteriormente as amostras pré-secas foram moídas em moinho estacionário do tipo Willey, utilizando-se peneira com abertura de malha de 1 mm e estocadas à temperatura ambiente em frascos de polietileno com tampa.

Foram determinados os teores de matéria seca em estufa a 105°C (AOAC, 1980), proteína bruta (PB) a partir da determinação do conteúdo de nitrogênio (N) pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1995) utilizando-se aparelho da marca Büchi para destilação e titulação e frações fibrosas, as quais foram determinadas pelo método sequencial de Van Soest *et al.* (1991), com adição 2 mL de α -amilase termo-resistente, utilizando sacos de tecido não tecido (TNT 100) com dimensões de 4x4 cm no aparelho Fiber analyser ANKOM²²⁰. Os valores de celulose foram obtidos pela diferença entre as frações de FDA, lignina e cinzas insolúveis. Os valores de hemiceluloses foram obtidos pela diferença entre FDN e FDA. As amostras

de urina foram analisadas para determinação de nitrogênio total conforme metodologias já mencionadas. A energia bruta foi determinada por bomba calorimétrica (6200 Calorímetro Isoperibol, Parr Instrument Company, Moline, IL).

O consumo de matéria seca (CMS) das dietas foi determinado pela diferença entre a quantidade de alimento fornecido aos animais e quantidade de sobras no cocho, em kg de matéria natural (MN), considerando-se separadamente o teor de MS (%MS) do oferecido e das sobras, conforme a seguinte equação:

$$\text{Consumo} = [(\text{kg oferecido (MN)} \times \% \text{ matéria seca oferecido})/100] - [(\text{kg sobras(MN)} \times \% \text{ matéria seca das sobras}) /100]$$

Onde:

MN= em kg de matéria natural

Os consumos de nutriente (proteína bruta, de fibra em detergente neutro, de fibra em detergente ácido, de celulose, de hemiceluloses e de lignina) foram determinados segundo a equação abaixo:

$$\text{Consumo de nutriente} = [(\text{kg oferecido (MS)} \times \% \text{ nutriente oferecido (MS)})/100] - [(\text{kg sobras(MS)} \times \% \text{ nutriente das sobras (MS)}) /100]$$

Onde:

MS= em kg de matéria seca

Para o cálculo do balanço de nitrogênio, ou nitrogênio retido, foram utilizados os valores de nitrogênio (N) consumido, nitrogênio fecal e nitrogênio urinário, através da equação:

$$\text{NR} = \text{NI} - (\text{NF} + \text{NU})$$

Onde:

- NR = nitrogênio retido
- NI = nitrogênio ingerido
- NF= nitrogênio fecal
- NU= nitrogênio urinário

O nitrogênio ingerido foi obtido pela diferença entre a quantidade de nitrogênio nos tratamentos oferecidos e a quantidade de nitrogênio nas sobras.

Na respirometria os resultados das concentrações dos gases e fluxo de ar eram automaticamente registrados por um software específico, que por diferença entre a composição do ar que entrou na câmara e do que saiu, calculou o volume (L) de O₂ consumido e de CO₂ e CH₄ produzidos pelos animais.

O cálculo da produção de calor foi realizado de acordo com a equação de Brouwer (1965):

$$H \text{ (kj)} = 16,18 \times O_2 \text{ (L)} + 5,02 \times CO_2 \text{ (L)} - 5,88 \times Nu \text{ (g)} - 2,17 \times CH_4 \text{ (L)}$$

Onde:

- H = é a produção de calor em quilo joule;
- Nu = é o nitrogênio urinário em gramas

Para a transformação dos dados em calorias, utilizou-se como referência o valor de 1 joule correspondente a 0,239 calorias.

O quociente respiratório (QR) foi calculado como a razão entre CO₂ produzido (L) e O₂ consumido (L):

$$QR = \frac{\text{CO}_2 \text{ (L) produzido}}{\text{O}_2 \text{ (L) consumido}}$$

Onde:

- CO₂ = Dióxido de carbono
- O₂ = Oxigênio

Os valores de energia digestível (ED) foram obtidos a partir da diferença entre a EB dos alimentos, das sobras no cocho e das fezes. Os valores de energia metabolizável (EM) foram obtidos a partir da diferença entre energia digestível e perdas de energia sob a forma de metano e urina. Para o cálculo da energia perdida na forma de metano, considerou-se o valor de 13,334 Kcal/grama e densidade de 0,7143 gramas/litro.

Dos valores de produção de calor observados para o animal alimentado, foram descontados os valores observados para o mesmo animal em jejum, para o cálculo do incremento calórico:

$$IC = P_{Cal} - P_{Cjj}$$

Onde:

- IC = incremento calórico
- P_{Cal} = Produção de calor pelo animal alimentado
- P_{Cjj} = produção de calor pelo animal em jejum

Os valores de energia líquida (EL) foram obtidos a partir da diferença entre energia metabolizável e perdas de energia como incremento calórico.

Para a determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente da energia bruta foram utilizados os dados de consumo e produção fecal, conforme metodologia utilizada por Maynard et al. (1984), segundo a equação:

$$DAEB = \frac{OF - SB - FZ \times 100}{OF - SB}$$

Onde:

- OF = [quantidade de alimento oferecido (Kg de MS)] x [teor de EB no oferecido (% da MS)]/100
- SB = [quantidade de sobras retiradas (Kg de MS)] x [teor de EB nas sobras (% da MS)]/100
- FZ = [quantidade de fezes coletadas (Kg de MS)] x [teor de EB nas fezes (% da MS)]/100

O valor de metabolizabilidade da energia bruta (qm) foi obtido a partir da seguinte fórmula:

$$qm = \frac{CEM \times 100}{CEB}$$

Onde:

- CEM = Consumo de energia metabolizável (Kcal/dia);
- CEB = Consumo de energia bruta (Kcal/dia).

O valor de eficiência de utilização de energia metabolizável (km) foi obtido a partir da seguinte fórmula:

$$km = \frac{EL \times 100}{EM}$$

Onde:

- EL = Teor de energia líquida (Kcal/kgMS)
- EM = Teor de energia metabolizável (Kcal/kgMS)

Os dados obtidos no experimento de respirometria (trocas gasosas, produção de calor, incremento calórico) foram ajustados para o consumo observado no experimento de digestibilidade aparente. Isso foi necessário já que, nos cálculos de partição de energia, os teores de energia bruta foram determinados nas amostras de sobras, fezes e urina coletadas na digestibilidades.

Análises estatísticas

Foi utilizado o delineamento quadrado latino 4×4 composto por quatro tratamentos e quatro períodos, com um arranjo fatorial 2×2 com dois tipos de processamento do milho e duas substituições por glicerina bruta.

As análises foram feitas no SAS usando o PROC GLM foram feitos os contrastes ortogonais conforme tratamento e também teste de médias, de médias ajustadas e erros padrão associados. Os contrastes dos tratamentos dois a dois prevê a comparação dos fatoriais (efeitos simples e compostos).

O modelo foi como se segue:

Modelo 1 = $Y_{ijkl} = \mu + Q_i + T_j + (P/Q)_{ik} + (V/Q)_{il} + Q \times T_{ij} + e_{ijkl}$, sendo:

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

μ = constante geral;

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

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

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

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

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

e_{ijkl} erro aleatório, associado a cada observação, pressuposto NID ($;$ σ^2)

4.3 Resultados e discussão

Os consumos de matéria seca não diferiram entre si ($P>0,05$). Os consumos foram MM= 1,49 kg/dia, ME= 1,45 kg/dia, MMG= 1,49 kg/dia, MEG= 1,35 kg/dia (Tab. 3). Os consumos de matéria seca em g/kgPM não diferiram entre os tratamentos ($P>0,05$), MM= 75,6 g/kgPM, ME= 70,7g/kgPM, MMG= 73,7g/kgPM, MEG= 67,1g/kgPM. Considerando-se o consumo diário de MS para manutenção de ovinos adultos, preconizado pelo NRC (2007) de 1050g de matéria seca por dia, 1,75% do peso vivo e/ou 53,2 g/kg PM, observou que todas as dietas supriram além das exigências, não havendo, portanto, limitação física do consumo, e não diferiram devido ao processamento do milho ou adição de glicerina.

Tabela 3. Consumos de matéria seca (CMS) em Kg/dia, em gramas/kg de PV (CMSPV), em gramas/kg^{0,75} (CMSPM), consumo de extrato etéreo (CEE) em Kg/dia, consumo de proteína bruta (CPB) em Kg/dia, consumo de fibra em detergente neutro (CFDN) em Kg/dia, em gramas/kg de PV (CFDNPV), em gramas/kg^{0,75} (CFDNPM) e peso vivo em Kg de ovelhas alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido, sem e com adição de glicerina bruta.

Item	Tratamentos								EE
	Sem glicerina		Com glicerina		Contraste			EPM	
	MM (1)	ME (2)	MMG(3)	MEG(4)	(1-2)	(3-4)	(1+2)-(3+4)		
CMS(kg/dia)	1,49	1,45	1,49	1,35	0,21	NS	NS	NS	0,29
CFDN(kg/dia)	0,98	0,95	0,99	0,97	0,31	NS	NS	NS	0,30
CPB(kg/dia)	0,24	0,25	0,29	0,23	0,11	NS	NS	NS	0,16
CEE(kg/dia)	0,024	0,027	0,037	0,046	0,15	NS	NS	NS	0,40
	Consumo g/kg peso corporal								
CMSPV(g/kg PV)	27,9	25,7	26,3	24,6	0,12	NS	NS	NS	0,34
CFDNPV(g/kg PV)	18,4	16,8	17,9	17,7	0,02	NS	NS	NS	0,56
CMSPM(g/kg PM)	75,6	70,7	73,7	67,1	0,05	NS	NS	NS	0,34
CFDNPM(g/kgPM)	49,7	46,3	49,0	48,2	0,23	NS	NS	NS	0,64
PV (kg)	53,35	56,25	55,08	54,81	1,53	NS	NS	NS	1,06

MM= Milho, ME= milho expandido, MMG= milho moído com glicerina, MEG= milho expandido com glicerina PV= peso vivo, PM= peso vivo^{0,75} EE= Erro Estimado, EPM= Erro Padrão da Média.

Os valores de consumo mensurados neste experimento são próximos dos valores encontrados por Andrade (2010), que trabalhando com ovelhas adultas e com teores de substituição de milho grão moído por milho expandido (0, 33, 66 e 100%) encontrou os seguintes CMS de 1,26 kg/dia, 1,39 kg/dia, 1,22 kg/dia e 1,24 kg/dia, CMSPM foram 67,56

g/kgPM, 72,95 g/kgPM, 62,97 g/kgPM e 65,94 g/kgPM respectivamente para os tratamentos 0 %, 33%, 66% e 100% de substituição do milho moído por milho expandido.

Os consumos de FDN (CFDN) neste estudo foram MM=0,24 kg/dia, ME=0,25 kg/dia, MMG=0,29 kg/dia, MEG=0,23 kg/dia (Tab. 3) não diferiram significativamente ($P>0,05$) entre os tratamentos estudados e os CFDNPM foram 49,7 g/kgPM, 46,3 g/kgPM, 49 g/kgPM e 48,2 g/kgPM também não diferiu ($P>0,05$). Andrade (2010), encontrou os valores de CFDN de 0,47 kg/dia, 0,54 kg/dia, 0,45 kg/dia e 0,52 kg/dia e CFDNPM foram 25,65 g/kgPM, 28,33 g/kgPM, 23,59 g/kgPM e 27,71 g/kgPM respectivamente para os tratamentos 0 %, 33%, 66% e 100% de substituição do milho moído por milho expandido. Neste experimento os valores encontrados de consumo de FDN foram maiores que aqueles encontrados por Andrade (2010) o que é explicado pelos maiores consumos de matéria seca neste experimento que conseqüentemente influenciou no maior consumo de fibra.

Forbes e Mayes (2002) destacaram que os pequenos ruminantes têm a capacidade de ajustar o consumo alimentar, principalmente em função de seus requisitos energéticos, da capacidade de enchimento e da manutenção do ambiente ruminal. Mertens (1994), por sua vez, afirmou que o aumento do consumo de alimento fibroso pode ocorrer quando a forragem apresenta valores inferiores a 30% de FDA.

Os consumos médios de proteína bruta neste estudo foram MM=0,24 kg/dia, ME=0,25 kg/dia, MMG=0,29 kg/dia, MEG=0,23 kg/dia (Tab. 3) não diferiu significativamente ($P>0,05$) entre os tratamentos estudados. Andrade (2010) encontrou os valores de consumo de proteína bruta de 0,214 kg/dia, 0,235 kg/dia, 0,214 kg/dia e 0,200 kg/dia respectivamente para os tratamentos 0%, 33%, 66% e 100% de substituição do milho moído por milho expandido. Valores esses menores mais muito próximos aos encontrados nesse experimento.

A quantidade de nitrogênio ingerido (g/dia), nitrogênio fecal (g/dia), nitrogênio urinário (g/dia), nitrogênio retido (%) e balanço de nitrogênio (%) encontram-se na tabela 4, não houve diferença ($p>0,05$) para esses parâmetros avaliados.

Os valores encontrados de NI neste experimento foram maiores que os encontrados por Rodrigues (2002) que avaliando níveis de inclusão de milho expandido e milho moído na dieta de ovinos como única fonte de concentrado na dieta, observou média de NI de 35 g/dia. Valores próximos dos encontrados por Rodrigues (2002) foram os de Andrade, (2010) para NI de 32 a 37 g/dia, NF de 8 a 9 g/dia respectivamente para os tratamentos 0%, 33%, 66% e 100% de substituição do milho moído por milho expandido.

Tabela 4. Nitrogenio ingerido (NI) em grama por dia (g/dia), perda fecal de nitrogênio (PF) em grama por dia (g/dia), e perda urinaria de nitrogênio (PU) em grama por dia (g/dia), nitrogenio retido (NR) em grama por dia (g/dia), balanços de nitrogênio em porcentagem (%), eficiências de uso do nitrogenio retido (EUN) em porcentagem (%) em ovelhas alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido, sem e com adição de glicerina bruta.

Item	Tratamentos								EE
	Sem glicerina		Com glicerina		Contraste			EPM	
	MM (1)	ME (2)	MMG(3)	MEG(4)	(1-2)	(3-4)	(1+2)-(3+4)		
Nitrogenio Ingerido (g/dia)	52,49	50,82	49,65	49,78	0,05	NS	NS	NS	0,41
PF de nitrogenio (g/dia)	8,8	15,6	7,8	13,46	0,01	NS	NS	NS	0,23
Nitrogenio absorvido (g/dia)	48,09	46,85	45,75	43,04	0,2	NS	NS	NS	0,57
PU (g/dia)	10,7	10,7	9,8	10,52	0,4	NS	NS	NS	0,35
NR (g/dia)	32,98	24,50	35,0	25,79	0,6	NS	NS	NS	0,12
Balanço de nitrogenio (%) ¹	62	42	64	52	0,32	NS	NS	NS	0,64
EUN (%) ²	75	60	76	60	0,41	NS	NS	NS	0,47

¹ (NR/NI), ² (NR/NA). PU=perda urinaria, NR= nitrogênio retido, EUN= eficiência no uso de nitrogênio, MM= Milho, ME= milho expandido, MMG= milho moído com glicerina, MEG= milho expandido com glicerina EE= Erro Estimado, EPM= Erro Padrão da Média.

As retenções de nitrogênio e os balanços de nitrogenio dos tratamentos foram positivos, e variaram de 24,5 a 35 g/dia, e de 42 a 64 % respectivamente e não diferiu entre os tratamentos (P>0,05). Andrade, (2010) observou retenções de nitrogênio de 16,18 g/dia, 18,59 g/dia, 16,59 g/dia, 13,47 g/dia e balanço de nitrogênio de 46,18%, 48,30%, 48,54%, 41,92% respectivamente para os tratamentos 0%, 33%, 66% e 100% de substituição do milho moído por milho expandido.

A eficiência da utilização do nitrogênio pelos microrganismos do rúmen pode ser observada pelos valores relativamente baixos de nitrogênio fecal e urinário, e conseqüentemente pelos valores positivos de nitrogênio retido e de balanço de nitrogênio. Neste experimento a substituição do milho por milho expandido não foi suficiente para provocar diferença (p>0,05) entre os tratamentos, além disso, a substituição do milho pela glicerina (5%MS) não provocou efeitos negativos no uso do nitrogênio pelos animais. Portanto os altos valores

encontrados de nitrogênio ingerido podem ser atribuídos à proporção concentrado: volumoso (50:50) das dietas, fazendo com que uma maior quantidade de amido e proteína proveniente do concentrado seja fermentado e degradado no rúmen.

Os consumos de energia bruta (CEB) não diferiram entre os tratamentos (MM=320,22 kcal/kg PM, ME=342,03 kcal/kg PM, MMG=336,10 kcal/kg PM, MEG=363,40 kcal/kg PM) (Tabela 5). Os valores encontrados para energia bruta, neste experimento foram menores que os encontrados por Rodrigues (2002), que obteve valores de CEB entre 401,25 a 498,14 Kcal/kgPM. Pôssas (2013) estudando a partição de energia em ovinos alimentados com silagem de três híbridos de milho colhidos em três estádios de maturidade, pastoso (87 dias), farináceo (94 dias) e farináceo-duro (101 dias), por meio de calorimetria indireta, encontrou CEB, variando de 182,90 a 262,20 kcal/kg PM, valores menores que os encontrados nesse experimento.

O consumo de energia digestível (CED) é resultado da interação entre CMS, densidade energética e extensão da perda de energia nas fezes. Neste experimento os CED não diferiram ($p>0,05$) entre os tratamentos (MM=157,09 kcal/kg PM, ME=164,98 kcal/kg PM, MMG=169,21 kcal/kg PM, MEG=197,56 kcal/kg PM). Ribas (2006) observou CED médio de 184,68 kcal/kgPM para ovinos alimentados com as silagens de quatro híbridos de milho com diferentes graus de vitreosidade. Freitas et al. (2003) encontrou valores de CED variando de 149,30 a 190,33 kcal/kgPM para as cinco silagens de milho avaliadas. Os valores observados nos dois estudos foram próximos aos encontrados no presente experimento. O NRC (2007) recomenda a exigência de energia digestível para ovinos em manutenção de $146,5 \text{ kcal/kg}^{0,75}/\text{dia}$, de forma que as dietas atenderam esta demanda proporcionando excesso de energia que pode ser usado para o aumento de peso dos animais.

Os consumos de energia metabolizável (CEM) não diferiu ($p>0,05$) para (MM=119,86 kcal/kgPM, ME=137,16 kcal/kgPM, MMG=143,7 kcal/kgPM, MEG=164,16 kcal/kg PM) entre os tratamentos. Os CEM em kcal/dia variaram de 2361,24 kcal/dia a 3299,6 kcal/dia.

As recomendações do NRC (2007) são de ingestão de 2.010,0 Kcal/dia de energia metabolizável para ovelhas adultas em manutenção entre 50 e 60 kg de peso vivo. As dietas supriram tais exigências de manutenção. Os CEB (277,7 a 302,1 kcal/kgPM) e CEM (164,6 a 180 kcal/kgPM) encontrados por Andrade (2010) foram menores que os encontrados nesse experimento. Ribas (2006) observou CEM variando de 169,18 a 190,26 kcal/kgPM, valores superiores aos encontrados no presente estudo. Pôssas (2013) observou CEM variando de 89,09 a 135,64 kcal/kgPM valores esses mais próximos dos valores encontrados nesse experimento.

Tabela 5. Consumos de energia bruta (CEB) em Kcal/kgPM, energia digestível (CED) em Kcal/kgPM, energia metabolizável (CEM) em Kcal/kgPM e em Kcal/dia, energia líquida (CEL) em Kcal/kgPM e perdas de energia fecal em kcal/kgPM, energia urinária em kcal/kgPM, incremento calórico (IC) em kcal/kgPM e energia retida em kcal/kgPM de ovelhas alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido sem e com adição de glicerina bruta.

Item	Tratamentos								EE
	Sem glicerina		Com glicerina		Contraste				
	MM (1)	ME (2)	MMG(3)	MEG(4)	EPM	(1-2)	(3-4)	(1+2)-(3+4)	
CEB ¹	320,22	342,03	336,10	363,40	1,78	NS	NS	NS	0,69
Perda de energia nas fezes ¹	163,13	177,05	166,89	165,84	1,03	NS	NS	NS	0,87
CED ¹	157,09	164,98	169,21	197,56	1,06	NS	NS	NS	0,57
Perda de energia na urina ¹	6,83	7,53	7,51	7,54	0,98	NS	NS	NS	0,75
Perda de energia no metano ¹	30,40	20,29	18,0	25,86	1,0	NS	NS	NS	0,64
CEM (Kcal/dia)	2361,24	2811,7	2902,74	3299,6	0,87	NS	NS	NS	0,54
CEM (kcal/kg PM)	119,86	137,16	143,7	164,16	0,61	NS	NS	NS	0,01
Perdas de energia de IC ¹	35,30	33,12	32,81	33,95	0,79	NS	NS	NS	0,64
CEL ¹	84,56	104,08	110,89	126,26	0,46	NS	NS	NS	0,17
Retenção de energia ¹	31,26	48,56	55,1	75,56	1,36	NS	NS	NS	0,97

¹kcal/kg PM. MM= Milho, ME= milho expandido, MMG= milho moído com glicerina, MEG= milho expandido com glicerina EE= Erro Estimado, EPM= Erro Padrão da Média. IC= Incremento calórico. Produção de calor do animal alimentado + energia bruta contida na urina representou a exigência de energia metabolizável de manutenção. Retenção de energia (Balanço de energia) = Diferença entre o consumo de energia metabolizável e a produção de calor do animal.

O consumo de energia líquida também não diferiu ($P>0,05$) entre os tratamentos (MM=84,56 kcal/kgPM, ME=104,04 kcal/kgPM, MMG=110,89 kcal/kgPM, MEG=126,26 kcal/kgPM). Segundo o NRC (2007) a exigência líquida de energia para manutenção de ovinos seria de 62 Kcal/UTM/dia, assim sendo todos os tratamentos atenderam as exigências de manutenção dos animais sobrando energia para ganho de peso que foi observado durante o experimento. Pôssas (2013) encontrou CEL que variou de 24,45 a 83,38 kcal/UTM/dia. Valores esses menores que os encontrados nesse experimento.

Machado (2010), também utilizando a técnica de calorimetria indireta, observou valores de

CEL, para ovinos alimentados com as silagens de sorgo colhidas em três idades de corte, variando de 47,68 a 96,17 kcal/UTM/dia, valores menores aos do presente estudo. Teixeira (2013) observou CEL de 137,35; 88,07 e 116,66 kcal/UTM/dia para ovinos alimentados com capim-elefante cortado aos 56, 84 e 112 dias. Ribas (2010) observou valor médio de CEL de 149,84 kcal/UTM/dia para ovinos alimentados com híbridos de sorgo com capim sudão. Velasco (2011) encontrou valores de CEL variando de 118,98 a 131,81 kcal/UTM/dia para ovinos tratados com capim *Brachiaria decumbens* cortado aos 56, 84 e 112 dias de crescimento. Valores esses próximos aos deste experimento.

Para as perdas de energia nas fezes (MM=163,13 kcal/kg PM, ME=177,05 kcal/kg PM, MMG=166,89 kcal/kg PM, MEG=165,84 kcal/kg PM), não diferiu ($P>0,05$) (tab.5). As perdas de energia nas fezes em porcentagem da EB ingerida foram de MM=50,9%EB, ME=51,7%EB, MMG=49,6%EB, MEG=45,63%EB (tab.6). Pôssas (2013) encontrou a variação de 37,01 a 45,36% para as perdas de energia nas fezes em relação a EB ingerida, valores menores que os encontrados no atual experimento. Machado (2010), estudando às perdas de energia nas fezes, observou valores entre 88,73 Kcal/kgPM e 121,82 Kcal/kgPM, sendo que não houve diferença estatística entre os tratamentos ($P>0,05$). Quando expressa como porcentagem da energia bruta ingerida, os valores de perdas energéticas nas fezes oscilaram de 42,03% a 52,0%. Os valores observados para as silagens de sorgo por Machado (2010) foram semelhantes aos desse experimento.

Para as dietas de ruminantes a energia perdida nas fezes representa de 10% a 70% da energia bruta ingerida, indicando que a perda fecal de energia é o fator mais determinante sobre o valor nutritivo relativo dos diferentes alimentos como fontes de energia (Blaxter, 1962). Frequentemente, as perdas fecais de energia são pequenas quando a forrageira apresenta altas concentrações de carboidratos não fibrosos, como açúcares, amido e frutanas. Em contrapartida, maiores perdas fecais estão associadas com a presença de grandes quantidades de carboidratos fibrosos, como a celulose e as hemiceluloses, e de ligninas (Van Soest, 1994). No presente estudo não houve diferença entre os CFDN o que pode ter levado a não diferir para as perdas de energia entre os tratamentos.

Para a energia perdida na urina (MM=6,83 kcal/kgPM, ME=7,53 kcal/kgPM, MMG=7,51 kcal/kgPM, MEG=7,54 kcal/kgPM), não diferiram ($P>0,05$) entre os tratamentos, assim como para as perdas na urina em porcentagem da EB ingerida (MM=2,13%EB, ME=2,20%EB, MMG=2,23%EB, MEG=2,05%EB) (tab.5 e tab.6) assim como a ingestão de nitrogênio não diferiu entre os tratamentos (tab.4). Segundo Van Soest (1994), aumentos na ingestão de nitrogênio estão associados à maior produção de ureia no fígado e à uma

maior excreção nitrogeno via urina.

Pôssas (2013) observou energia perdida na forma de urina, como uma variação de 2,19 a 4,79 kcal/kgPM, sendo que esses valores representaram de 0,91 a 2,04% da energia bruta ingerida. Machado (2010) encontrou valores de perdas de energia na urina variando de 2,35 a 4,48 kcal/kgPM, onde esses valores corresponderam de 0,95 a 2,15% da energia bruta ingerida, valores muito próximos aos encontrados nesse experimento.

A energia perdida na forma de metano (MM=30,40 kcal/kgPM, ME=20,29 kcal/kgPM, MMG=18 kcal/kgPM, MEG=25,26 kcal/kg PM) e a energia perdida na forma de metano em porcentagem de EB (MM=9,49%EB, ME=5%EB, MMG=5,35%EB, MEG=7,11%EB) não diferiram ($P>0,05$) entre os tratamentos (tab.5 e tab.6). Machado (2010) observou uma variação das perdas de energia na forma de metano em relação a energia bruta variando de 3,78 a 5,83%. Santoso et al. (2006) avaliando a produção de metano e a partição de energia em ovinos alimentados com dietas baseadas em silagem ou feno de Timothy, observaram que as perdas de energia na forma de metano em relação a energia bruta ingerida foram de 7,43% e 6,35%, para a silagem e feno, respectivamente. Pôssas (2013) observou perdas de energia na forma de metano variando de 11,05 a 16,64 kcal/kgPM, sendo o percentual em relação a energia bruta de 4,88 a 6,68%. Os resultados do presente estudo se enquadram no intervalo de 2 a 12% da energia bruta ingerida, quando são utilizadas câmaras respirométricas (Johnson e Johnson, 1995). As porcentagens encontradas nesse experimento foram próximas as encontradas pelos autores citados acima a quantidade em kcal/kgPM desse experimento foram maiores que as encontradas por Pôssas (2013) trabalhando com silagem de milho.

As energias perdidas na forma de incremento calórico (IC) (MM=35,3 kcal/kg PM, ME=33,12 kcal/kg PM, MMG=32,81 kcal/kg PM, MEG=33,95 kcal/kg PM) e as energias perdidas na forma de IC em porcentagem de EB (MM=10,99%EB, ME=9,68%EB, MMG=9,76%EB, MEG=9,34%EB) não diferiram ($p>0,05$) entre os tratamentos (tab.5 e tab.6). A mitigação das perdas é fundamental para potencializar o aproveitamento de energia dos alimentos, principalmente aquelas possíveis de serem minimizadas por balanceamento da dieta. O IC também depende da dieta, para alimentos concentrados, pode variar de 15 a 25 kcal EM, enquanto que para forragens varia de 35 a 60 kcal EM (Johnson et al., 2003).

Pôssas (2013) observou variação nas perdas de energia por IC de 45,45 a 73,73 kcal/kgPM com variação de 19,59 a 35,56%, valores maiores que os encontrados nesse experimento. Machado (2010) encontrou valores de IC variando de 19,34 a 41,70 kcal/UTM/dia, sendo

que esses valores corresponderam a 10,10 a 19,48% da energia bruta consumida, para ovinos alimentados com as silagens de sorgo colhidas em três idades. Esses valores foram próximos aos obtidos no presente estudo. O valor do incremento calórico depende da quantidade de alimento ingerido, bem como da sua composição, uma vez que representa o aumento da produção de calor decorrente do consumo de um determinado alimento. Este aumento ocorre porque os processos de digestão e transporte da digesta e/ou metabólitos no trato digestivo requerem energia.

Assim como a retenção de energia que não foi diferente ($p>0,05$) entre os tratamentos sendo positiva em todos eles, mostrando que os consumos de energia foram suficientes para atender as exigências de manutenção e apresentaram sobra que pode ser utilizada para ganhos de peso. Entretanto vale ressaltar que essas medições foram feitas com animais com movimento restrito e a campo parte dessa energia poderia ser direcionada para manter a atividade de pastejo.

Tabela 6. Perdas de energia nas fezes em porcentagem da energia bruta (%EB), na urina em porcentagem da energia bruta (%EB), como metano em porcentagem da energia bruta (%EB), e incremento calórico em porcentagem da energia bruta (%EB) de ovelhas alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido, sem e com adição de glicerina bruta.

Item	Tratamentos			
	Sem glicerina		Com glicerina	
	MM (1)	ME (2)	MMG (3)	MEG (4)
Fezes (%EB)	50,9	51,7	49,6	45,63
Urina (%EB)	2,13	2,20	2,23	2,05
Metano (%EB)	9,49	5,0	5,35	7,11
Incremento calórico (%EB)	10,99	9,68	9,76	9,34

A metabolizabilidade (qm) (MM=0,37 kcal/kcal, ME=0,40 kcal/kcal, MMG=0,42 kcal/kcal, MEG=0,45 kcal/kcal) não diferiu ($p>0,05$) entre os tratamentos. A metabolizabilidade representa a relação entre a energia metabolizável e energia bruta, espera-se que as perdas de energia na forma de fezes, urina e metano determinem seu valor. Pôssas (2013) encontrou valores de qm que variaram entre 0,47 a 0,54, valores próximos aos encontrados nesse experimento. Ribas (2010) encontrou valores de qm variando de 0,60 a 0,64 para híbridos de sorgo com capim Sudão, valores superiores aos do presente estudo. Machado

(2010) observou valores entre de 0,42 a 0,50 para as silagens de sorgo colhidas em três estádios de maturidade, valores próximos aos do presente estudo. Teixeira (2013) avaliando o capim elefante colhido em três idades, observou qm variando de 0,49 a 0,62, sendo esses valores superiores aos deste trabalho.

A eficiência em conversão de energia metabolizável em energia líquida (km) (MM=70%, ME=75%, MMG=77%, MEG=76%) não diferiu ($p>0,05$) entre os tratamentos. Os valores de km encontrados por Pôssas (2013) variaram de 27,52 a 61,43, valores menores que os encontrados nesse experimento. A eficiência de uso da energia metabolizável para a manutenção (km) é expressa pela relação entre a energia metabolizável para manutenção e a energia líquida, sendo influenciada pelo IC da dieta, como o IC não diferiu entre os tratamentos o comportamento de km era o esperado. A literatura indica que a eficiência de uso da EM para manutenção é relativamente constante, independente da composição do alimento. De acordo com Fox et al. (2003), a km varia de 57,6% para dietas com EM de 2,0 Mcal/Kg (típica para gramíneas temperadas no estádio de final de florescimento), a 65,1% para EM de 2,6 Mcal/Kg (típica para silagem de milho) até 68,6 para EM de 3,2 Mcal/Kg (grãos de milho).

A relação entre a energia líquida e a energia bruta EL(%EB) foi de MM=26%, ME=30%, MMG=32%, MEG=34% e não diferiu ($p>0,05$) entre os tratamentos comportamento semelhante ao do km. A variação da EL(%EB) encontrada por Pôssas (2013) foi de 13,87 a 33,38% valores próximos aos desse experimento. Machado (2010) trabalhando com as silagens de sorgo encontrou valores da EL(%EB) variando entre 22,58% e 40,12%, valores superiores aos deste experimento. Velasco (2011) observou valores de EL(%EB), variando de 41,24% e 43,3%, para o capim *Brachiaria decumbens* em três idades. Teixeira (2013) observou valores variando de 33,39 a 45,15% para o capim elefante cortado em três idades, valores superiores ao presente estudo.

Tabela 7. Medias da metabolizabilidade da energia bruta (qm) (kcal/kcal), eficiência de conversão da energia metabolizável em energia líquida (Km) em porcentagem (%) e a energia líquida em porcentagem de energia bruta (%EB) de ovelhas alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido, sem e com adição de glicerina bruta.

Item	Tratamentos								EE
	Sem glicerina		Com glicerina		Contraste			EPM	
	MM (1)	ME (2)	MMG(3)	MEG(4)	(1-2)	(3-4)	(1+2)-(3+4)		
qm (kcal/kcal)	0,37	0,40	0,42	0,45	0,99	NS	NS	NS	0,67
Km (%)	70	75	77	76	0,98	NS	NS	NS	0,88
EL(%EB)	26	30	32	34	1,02	NS	NS	NS	0,97

MM= Milho, ME= milho expandido, MMG= milho moído com glicerina, MEG= milho expandido com glicerina EE= Erro Estimado, EPM= Erro Padrão da Média.

O consumo de oxigênio (O_2) foi diferente ($p < 0,05$) (MM=29,74 L/PM, ME=22,97 L/kg PM, MMG=28,89 L/PM, MEG= 29,07 L/PM) entre os tratamentos (Tabela 8). Os maiores consumos O_2 foram observados para o tratamento de milho moído sem glicerina, seguidos pelos tratamentos com glicerina e os menores consumos no tratamento de milho expandido sem glicerina. A produção de dióxido de carbono (CO_2) diferiu ($p < 0,05$) (MM=25,93 L/PM, ME=22,57 L/PM, MMG=26,56 L/PM, MEG= 27,38 L/PM) entre os tratamentos (Tabela 8). As maiores produções de CO_2 foram observados nos tratamentos com adição de glicerina bruta, seguido pelo tratamento de milho moído sem glicerina e as menores produções foram no tratamento de milho expandido sem glicerina.

Pôssas (2013) encontrou consumo diário de O_2 que variou de 23,00 a 32,06 L/PM e produções de CO_2 que variaram de 21,05 a 27,43 L/PM, valores próximos aos encontrados nesse experimento. Machado (2010) observou consumo de O_2 variando de 20,85 L/PM a 28,74 L/PM e a produção de CO_2 variando de 17,15 L/PM a 25,46 L/PM para ovinos alimentados com as silagens de sorgo, resultados próximos aos observados neste estudo. Teixeira (2013) avaliando ovinos recebendo capim elefante cortado em três idades observou consumo de O_2 variando de 17,47 a 26,49 L/PM e produção de CO_2 de 16,65 a 26,32 L/PM resultados próximos aos observados neste estudo. Ribas (2010) avaliando híbridos de sorgo com capim-sudão observou variação no consumo de O_2 de 27,96 a 35,84 L/PM e a produção de CO_2 de 26,03 a 33,35 L/PM, valores acima deste estudo.

A produção de metano (CH_4) diferiu ($p < 0,05$) (MM=1,73 L/PM, ME=1,4 L/kg PM, MMG=1,93 L/PM, MEG= 1,90 L/PM) entre os tratamentos (Tabela 8) apesar dos CFDN

não diferirem ($P>0,05$). As maiores produções de CH_4 foram observados nos tratamentos com adição de glicerina e seguida pelo tratamento de milho moído sem adição de glicerina e as menores produções foram observadas no tratamento de milho expandido sem adição de glicerina. Pôssas (2013) encontrou produções de CH_4 que variaram de 1,15 a 1,74 L/PM, valores próximos aos encontrados nesse experimento. Machado (2010) observou produção de CH_4 de 0,99 a 1,36 L/PM valores menores que os observados nesse experimento. Ribas (2010) observou a variação na produção de metano de ovinos alimentados com híbridos de sorgo com capim sudão, de 1,06 a 1,57 L/PM, valores menores que os encontrados nesse experimento. Já Velasco (2011), avaliando o capim *Brachiaria decumbens* cortado em três idades, encontrou valores de produção de metano variando de 1,20 a 1,97 L/PM em ovinos, valores próximos deste experimento.

O quociente respiratório não diferiu ($P>0,05$) (MM=0,89, ME=0,99, MMG=0,92, MEG=0,95) entre os tratamentos (Tabela 8). Pôssas (2013) estudando diferentes pontos de corte do milho para silagem encontrou quocientes respiratórios que variaram de 0,83 a 0,94, próximos aos encontrados ao presente experimento.

Não diferiu significativamente ($P>0,05$) a produção diária de calor (PC) (MM=34,93 kcal/PM, ME=27,79 kcal/PM, MMG=34,33 kcal/PM, MEG=34,74 kcal/PM) entre os tratamentos (Tabela 8). Pôssas (2013) encontrou PC que variou de 113,62 a 155,84 Kcal/PM. Para a PC, Machado (2010) encontrou valores entre 105,82 a 127,98 Kcal/PM para ovinos alimentados com as silagens de sorgo colhidas em três estádios de maturidade. Teixeira (2013) observou PC entre 87,19 a 132,57 Kcal/PM para ovinos alimentados com capim elefante cortado em três idades. Já Ribas (2010), observou PC entre 92,5 a 177,8 Kcal/PM para ovinos alimentados com híbridos de sorgo com capim sudão. Os valores encontrados pelos autores citados acima foram maiores que os encontrados nesse experimento possivelmente devido a dieta nesse experimento conter 50% de concentrado o que pode ter favorecido a menor produção de calor nesse experimento.

Tabela 8. Consumos de oxigênio (L/PM), produções de dióxido de carbono (CO₂) (L/PM), produções de metano (L/PM), produção de calor (PC) (kcal/PM) e quociente respiratório (QR) (L/L) de ovelhas alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido, sem e com adição de glicerina bruta.

Item	Tratamentos								EE
	Sem glicerina		Com glicerina			Contraste			
	MM (1)	ME (2)	MMG(3)	MEG(4)	EPM	(1-2)	(3-4)	(1+2)-(3+4)	
Oxigênio (L/PM)	29,74a	22,97b	28,89ab	29,07ab	1,57	NS	NS	NS	0,04
CO ₂ (L/PM)	25,93ab	22,57b	26,56a	27,38a	0,93	NS	NS	NS	1,31
Metano (L/PM)	1,73ab	1,4b	1,93a	1,90a	0,11	NS	NS	NS	0,15
PC ¹ (kcal/PM)	34,93	27,79	34,33	34,74	0,97	NS	NS	NS	0,13
QR (QR)	0,89	0,99	0,92	0,95	0,01	NS	NS	NS	0,01

¹ Produção de calor alimentado + energia excretada na urina, CO₂= Dióxido de carbono PC= produção de calor, QR= quociente respiratorio MM= Milho, ME= milho expandido, MMG= milho moído com glicerina, MEG= milho expandido com glicerina EE= Erro Estimado, EPM= Erro Padrão da Média.

A produção de metano em L/dia não diferiu ($P>0,05$) (MM=34,22 L/d, ME=28,7 L/d, MMG=39,14 L/d, MEG=38,3 L/d) entre os tratamentos. Em relação à produção de metano em g/PM diferiu ($P>0,05$) (MM= 1,22 g/PM, ME=1,0 g/PM, MMG=1,37 g/PM, MEG=1,35 g/PM) entre os tratamentos (tabela 9). Nos tratamentos com glicerina foram observados os maiores valores de produção de metano por g/PM seguido pelo tratamento de milho moído sem glicerina e as menores produções de metano por g/PM foi observado no tratamento com milho expandido sem glicerina.

Pôssas (2013) encontrou produção de metano que variou de 20,82 a 32,55 L/dia. Em relação à produção de metano em g/PM, a variação encontrada foi de 0,82 a 1,24 g/PM, valores semelhantes ao presente experimento para g/PM e valores menores para L/dia. Já Machado (2010) observou uma variação na produção de metano de 13,64 a 22,44 litros por dia. Teixeira (2013) encontrou valores entre 16,43 e 31,52 litros por dia, 0,87 a 1,53 g/PM, valores menores que os encontrados nesse experimento para L/dia e valores próximos desse experimento para g/PM. Os valores encontrados nesse experimento estão dentro da média da literatura (25- 55L/dia) para ovinos

A produção de metano em g/kg de MS consumida não diferiu ($P>0,05$) (MM=12,3 g/kgMS, ME= 11,1 g/kgMS, MMG=14,1 g/kgMS, MEG=14,4 g/kgMS) entre os tratamentos. Os valores de metano produzidos em relação à MS digestível (MSd) não diferiram ($P>0,05$) (MM=16,7 g/kgMSd, ME=15,1 g/kgMSd, MMG= 19,4 g/kgMSd, MEG=19,8 g/kgMSd) (Tabela 9). Pôssas (2013) encontrou para a produção de metano em g/kg de MS ingerida

produções de 17,36 a 22,78 g/kg de MS. Os valores de metano produzido em relação à MSd oscilaram entre 29,75 e 38,68 g/kg de MSd, valores maiores que os encontrados nesse experimento.

Teixeira (2013) encontrou valores de produção de metano em grama por quilo de matéria seca ingerida entre 13,33 a 18,91 g/kg de MS ingerida, e 25,46 a 29,09 g/kg de MSd ingerida, para ovinos alimentados com capim elefante cortado em três idades, valores mais próximos ao presente experimento. Santos et al. (2006) avaliando dietas a base de silagem ou feno de Timothy, observaram produção de metano de 25,17 e 21,94 g/kg de MS ingerida, para os ovinos alimentados com silagem e feno, respectivamente. Li et al. (2010), avaliaram a produção de metano em cabras alimentadas com uma dieta apresentando 70,9% de digestibilidade da MS, com uma mistura de feno de festuca e concentrado, em uma relação volumoso:concentrado de 50:50%. Os autores observaram uma produção diária média de metano de 1,09 g/kgPM (valores próximos dos encontrados nesse experimento) e 24,7 g/kg de MS ingerida (valores mais altos que os encontrados nesse experimento). Islam et al. (2000), observaram produção de metano de 23,5 g/kg de MS ingerida para cabras alimentadas com azevém. A produção de metano está relacionada à fermentação das frações fibrosas da dieta.

A produção de metano em g/kg de FDN consumida não diferiu ($P>0,05$) (MM=19,3 g/kgFDN, ME=17,3 g/kgFDN, MMG=20,9 g/kgFDN, MEG=19,5 g/kgFDN) entre os tratamentos. Os valores de metano produzido em relação à FDN digestível (FDNd) não diferiu ($P>0,05$) entre os tratamentos (MM=26,9 g/kgFDNd, ME=24,0 g/kgFDNd, MMG=29,1 g/kgFDNd, MEG=27,3 g/kgFDNd) (Tabela 9).

Pôssas (2013) observou produção de metano de 33,11 g/kg de FDN ingerido a 48,59 g/kg de FDN ingerido, e a produção de metano em g/kg de FDN digestível ingerido variou de 57,85 a 122,64 g/PM/FDND, valores mais altos que os encontrados nesse experimento. Teixeira (2013) obteve uma produção de metano por kg de FDN e por kg de FDNd ingerido de 19,81 a 28,93 g/kg de FDN (valores próximos ao desse experimento) e 40,34 a 47,96 g/kg de FDND, para ovinos alimentados com capim elefante cortado em diferentes idades os valores de g/kg de FDN foram próximos ao desse experimento e os de g/kg de FDNd foram maiores que os encontrados nesse experimento. Santos et al. (2006) encontraram produção de metano em g/kg de FDNd de 66,44 e 62,70, para ovinos alimentados com dietas a base de silagem e feno de Timothy, valores bem mais altos que os encontrados nesse experimento. Estermann et al (2002) demonstraram que a energia perdida na forma de metano está relacionada a ingestão de FDN e a digestibilidade da FDN que provavelmente foi menor que nos trabalhos citados acima, por isso a menor produção.

Tabela 9. Valores médios de produção de metano em litros por dia (L/d), em gramas por dia por PM (g/PM), em gramas por Kg de matéria seca ingerida (g/Kg MS), em gramas por kg de matéria seca digestível ingerida (g/kg MSd), em gramas por kg de FDN ingerido (g/kg FDN) e gramas por kg de FDN digestível ingerido (g/kg FDNd) de ovelhas alimentadas com silagem de milho e concentrado contendo milho ou milho expandido, sem e com adição de glicerina bruta.

Item	Tratamentos								EE
	Sem glicerina		Com glicerina		EPM	Contraste			
	MM (1)	ME (2)	MMG(3)	MEG(4)		(1-2)	(3-4)	(1+2)-(3+4)	
L/ dia	34,2	28,7	39,1	38,3	1,6	NS	NS	NS	0,67
g/kg PM	1,2ab	1,0b	1,3a	1,3a	0,08	NS	NS	NS	0,11
g/kgMS consumida	12,3	11,1	14,1	14,4	0,89	NS	NS	NS	0,56
g/kg MS digerida	16,7	15,1	19,4	19,8	1,19	NS	NS	NS	0,68
g/kg FDNC	19,3	17,3	20,9	19,5	1,72	NS	NS	NS	0,94
g/kg FDN digerida	26,9	24,0	29,1	27,3	1,38	NS	NS	NS	0,90

FDNC= fibra em detergente neutro ingerida MM= Milho, ME= milho expandido, MMG= milho moído com glicerina, MEG= milho expandido com glicerina EE= Erro Estimado, EPM= Erro Padrão da Média.

4.4 Conclusões

O milho expandido é um ingrediente de ração adequado para substituir totalmente o milho moído em rações para ovelhas, sem efeitos deletérios sobre o consumo de matéria seca, o metabolismo energético e do nitrogênio, sem alterar as emissões de gás metano para o ambiente.

O glicerol é um ingrediente de ração adequado para substituir o milho moído na ração de ovelhas. Sem efeitos deletérios sobre o consumo de matéria seca, o metabolismo energético e do nitrogênio, quando glicerol é utilizado em até 5% da matéria seca da dieta. Porém informações adicionais são necessárias para determinar os efeitos da extensão e duração de alimentação de glicerol sobre o consumo, metabolismo e produção de gases dos animais.

4.5 Referências bibliográficas

- ANDRADE, P. A. D. *Efeito do estresse calórico e do milho expandido em parâmetros digestivos e fisiológicos em ovinos*. 2010. 157p. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. *Official methods of analysis*. 16.ed. Washington: AOAC, 1995. 2000p.
- ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official methods of analysis*. 13ed. Washington - D.C.: AOAC, 1980, p.1015.
- BLAXTER, K. L. 1962. The Energy Metabolism of Ruminants. *Springfield, IL*. Charles C. Thomas.
- BROUWER, M. Report of sub-committee on constants and factors. In: SYMPOSIUM ON ENERGY METABOLISM HELD AT EUROPEAN ASSOCIATION FOR ANIMAL PRODUCTION, 1965, London. Proceedings... London: EAAP Academic, 1965. p. 441-443
- ESTERMANN, B.L.; SUTTER, F.; SCHLEGEL, P.O.; et al. Effect of calf age and dam breed on intake, energy expenditure, and excretion of nitrogen, phosphorus, and methane of beef cows with calves. *Journal Animal Science* v.80, p. 1124–1134. 2002.
- FORBES, J.M., MAYES, R.W. Food choice. In: Freer, M., Dove, H. (Ed.), *Sheep Nutrition*. CAB International, Wallingford, p. 51–69, 2002.
- FOX, D.G; TYLUTKI, T.P.; TEDESCHI, L.O. et al. *Sistema de carboidratos e proteínas líquidos para avaliação da nutrição de rebanhos e excreção de nutrientes* (CNCPS Versão 5.0): Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2003. 202p (documentação do Modelo CNCPS).
- FREITAS, G. A. R.; COELHO, S. G.; GONÇALVES, L. C. Consumo e digestibilidade aparente da matéria seca, proteína e energia bruta, e balanço de nitrogênio das silagens de cinco genótipos de milho. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 55, n. 4, 2003.
- GRAINGER C, CLARKE T, MCGINN S. M., Auldist MJ, Beauchemin KA, Hannah MC, Waghorn GC, Clark H, Eckard RJ (2007) Methane emissions from dairy cows measured using the sulphur hexafluoride (SF₆) tracer and chamber techniques. *Journal of Dairy Science* 90, 2755–2766.

JOHNSON, L.; HARRISON, J.H.; DAVIDSON, D.; et al. Corn silage management: Effects of hybrid, maturity, chop length, and mechanical processing on rate and extent of digestion. *J. Dairy. Sci.*, v.86, p. 3271-3299, 2003.

JOHNSON, K.A.; JOHNSON, D.E. Methane Emissions from Cattle. *Journal Animal Science*, v.73, p.2483- 2492, 1995.

ISLAM, M.; ABE, H.; HAYASHI, Y.; TERADA, F. Effects of feeding Italian ryegrass with corn on rumen environment, nutrient digestibility, methane emission, and energy and nitrogen utilization at two intake levels by goats. *Small Ruminant Research*. v. 38, p. 165-174. 2000.

LI, D. H.; KIM, B. G.; LEE, S. R. A respiration-metabolism chamber system for measuring gas emission and nutrient digestibility in small ruminant animals. *Revista Colombiana. Ciencia e Pecuaria* v.23, p. 444-450. 2010.

MACHADO, F. S. *Consumo, digestibilidade aparente, participação de energia e produção de metano em ovinos alimentados com silagens de sorgo em diferentes estádios de maturação*. 2010. 107p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.

MAYNARD, L.A.; LOOSLI, B.S.; HINTZ, H.F. et al. *Nutrição animal*. 3.ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 1984. 726p.

MERTENS, D.R. Regulation of Forage Intake. In: FAHEY JR, G.C. Forage quality, evaluation and utilization. Winsconsin: *American Society Agronomy*, 1994.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL- NRC. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. Washington, DC:

National Academy Press, 2007. 384p.

PRIMAVESI, O.; FRIGHETTO, R.T.S.; PEDREIRA, M.S.*et al.* [2004]. Metano entérico de bovinos leiteiros em condições tropicais brasileiras. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 39, n.3, p.277-283, 2004. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2004000300011> >. Acesso em: 20 set. 2011.

PÔSSAS F. P. *VALOR NUTRITIVO DAS SILAGENS DE TRÊS GENÓTIPOS DE MILHO EM TRÊS ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO*. 2013 126f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

RIBAS, M. N. *Avaliação nutricional de silagens de milho com diferentes graus de vitreosidade e com perfil de aminoácidos modificado*. 2006, 61f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, UFMG. Belo Horizonte.

RIBAS, M. N. *Avaliação agrônômica e nutricional de híbridos de sorgo com capim-sudão, normais e mutantes bmr- portadores de nervura marrom*. 2010. 128f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

RODRIGUES, E.N. *Digestibilidade aparente de dietas contendo feno de Tifton 85 (Cynnodon spp) e níveis crescentes de milho moído e milho expandido em ovinos*. 2002. 30p. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG.

RODRIGUEZ, N.M.; CAMPOS, W.E.; LACHICA, M.L. *et al.* [2007]. A calorimetry system for metabolism trials. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.59, n.2, p.495-500, 2007. Disponível em:< <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352007000200033> >. Acesso em: 27 set. 2011.

SANTOSO, B.; MWENYA, B.; SAR, C.; TAKAHASHI, J. Methane production and energy partition in sheep fed thiothy silage or hay-based diets. *JITV*. v. 12, n.1, p. 27-33. 2006.

TEIXEIRA, A. M. *Valor nutricional do capim-elefante (Pennisetum purpureum Schum.) verde em diferentes idades de corte*. 2013, 105f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, UFMG. Belo Horizonte.

VAN SOEST, P. J., ROBERTSON, J. B., LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal Dairy Science*, v.74, n.9, p.3583-3597, 1991

VAN SOEST, P.J. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2.ed. Ithaca: *Cornell University Press*, 1994. 476p.

VELASCO, F. O. *Valor nutritivo da Brachiaria decumbens em três idades*. 2011. 98p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

CAPÍTULO V

Considerações Finais e Implicações

A substituição do milho pela glicerina ou a expansão do milho não afetaram a produção e a composição de leite, o peso dos animais, consumo de matéria seca, proteína e frações fibrosas. Assim como as excreções de nitrogênio na urina e no plasma dos animais, já no leite a inclusão de glicerina diminuiu a secreção de nitrogênio, porém a produção microbiana e as concentrações de purina absorvidas não foram afetadas pela substituição do milho pela glicerina ou pelo milho expandido.

As produções de metano (g/kg matéria seca digestível ou g/kg fibra detergente neutro digestível) e o incremento calórico das ovelhas não foram influenciados pela adição de glicerina bruta as dietas em até 5% na matéria seca ou pelo processamento do milho. Assim, como as concentrações de energia líquida dos tratamentos.

Assim o milho expandido pode ser utilizado para substituir o milho moído em 100% e a glicerina em até 5% na matéria seca, sem afetar a produtividade animal.