

MARCELO VALVERDE DA SILVA

**INCLUSÃO DE GLICERINA BRUTA NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS
LEITEIRAS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação do Mestrado Profissional em
Zootecnia, para obtenção do título de
Magister Scientiae.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2012

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

T

S586i
2012

Silva, Marcelo Valverde da, 1976-
Inclusão de glicerina bruta na alimentação de vacas leiteiras /
Marcelo Valverde da Silva. – Viçosa, MG, 2012.
ix, 24f. : il. ; 29cm.

Orientador: Marcos Inácio Marcondes
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f. 19-24

1. Leite - Composição. 2. Bovino de leite. 3. Glicerina.
4. Leite - Produção. 5. Glicose. I. Universidade Federal de
Viçosa. Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-
Graduação em Zootecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 637.14

MARCELO VALVERDE DA SILVA

**INCLUSÃO DE GLICERINA BRUTA NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS
LEITEIRAS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação do Mestrado Profissional em
Zootecnia, para obtenção do título de
Magister Scientiae.

APROVADA: 13 de novembro de 2012.

Pedro Veiga Rodrigues Paulino
(Orientador)

Rilene Ferreira Diniz Valadares

Marcos Inácio Marcondes
(Orientador)

A Deus, pela saúde e força que me guia nessa jornada.

Aos meus pais, Vander e Alice Terezinha, pelo amor incondicional, força e confiança e pelo incentivo nas horas de dificuldade.

À minhas irmãs Maralice e Aline, pelo carinho, amor e cuidado.

À minha esposa Daniela e filho Mateus, pela alegria, amor e carinho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todo caminho percorrido, toda vitória alcançada e todos os obstáculos superados.

A meus pais, Vander e Alice Terezinha e minhas irmãs Aline e Maralice pelo apoio e compreensão, pela confiança e por tornarem possível mais essa etapa da minha vida.

A minha esposa, Daniela e meu filho Mateus pelo amor, carinho e preocupação.

Ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade e apoio na realização do curso.

Ao professor Marcos Marcondes, pela confiança, amizade e orientação.

Ao professor, co-orientador e amigo Pedro Veiga Rodrigues Paulino, pelos ensinamentos, confiança e orientação.

Aos meus amigos Tadeu, Mariana, Rafael, Emanuel, pelo companheirismo e dedicação na realização do experimento.

Aos funcionários da Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Gado de Leite pelas contribuições na realização deste trabalho.

À empresa Máster Alimentos Ltda, pela oportunidade e confiança em mim depositada.

A todos que direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

Marcelo Valverde da Silva, filho de Vander Ribeiro da Silva e Alice Terezinha Valverde da Silva, nasceu em Cataguases, estado de Minas Gerais, em 22 de março de 1976.

Em 1996, ingressou na Universidade Federal de Viçosa – UFV, onde obteve o título de Zootecnista, colando grau em março de 2001.

Neste mesmo ano entrou no mercado de trabalho na área comercial, com vendas de sal mineral.

Em 2002, foi contratado como promotor técnico da Novartis, laboratório de produto veterinário, trabalhando até 2008, quando foi admitido como gerente técnico da Máster Alimentos Ltda, fábrica de ração localizada na cidade de Rio Pomba.

Em julho de 2010, iniciou o curso de mestrado profissionalizante em Nutrição e Produção de Ruminantes na Universidade Federal de Viçosa, ainda com vínculo empregatício na fábrica de ração.

CONTEÚDO

RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
INTRODUÇÃO.....	1
OBJETIVO	5
MATERIAL E MÉTODOS.....	6
RESULTADOS E DISCUSSÃO	10
CONCLUSÕES.....	18
LITERATURA CITADA.....	19

RESUMO

SILVA, Marcelo Valverde da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, novembro de 2012. **INCLUSÃO de glicerina bruta na alimentação de vacas leiteiras.** Orientador: Marcos Inácio Marcondes Corientador: Pedro Veiga Rodrigues Paulino.

A crescente preocupação com o aquecimento global, conjuntamente com o crescimento da participação do biodiesel na matriz energética mundial, aumentou o interesse no cultivo e processamento de oleaginosas, criando oportunidades para a produção de ruminantes através do uso de co-produtos da produção do biodiesel. Dentre os resíduos, destaca-se a glicerina, um triol resultante da reação de transesterificação de uma fonte lipídica. Objetivou-se avaliar os efeitos da inclusão da glicerina bruta corrigida em proteína com um co-produto do beneficiamento do milho (MGM), que recebe o nome comercial de Mazoferm, em substituição ao milho grão moído nas proporções de 0%, 33,33%, 66,66% e 100%, na base da matéria seca (MS), sobre o consumo, digestibilidade, produção e composição do leite. Foram utilizadas 12 vacas da raça Holandesa, distribuídas em 3 quadrados latinos 4 X 4, de acordo com a produção de leite. Os animais receberam ração na proporção de 70:30 em volumoso e concentrado, na base da MS. Utilizou-se silagem de milho como fonte exclusiva de volumoso. Realizou-se a análise de variância para comparação de médias quantitativas utilizando nível de 10% de probabilidade para o erro tipo I. Não houve efeito ($P > 0,10$) para os consumos de MS, FDN e NDT. As digestibilidades de MS e FDN seguiram a mesma tendência, não havendo efeito ($P > 0,10$) com substituição de até 100% do milho grão pela MGM. Os consumos e digestibilidades da proteína bruta (PB) reduziram de forma linear. Os consumos de extrato etéreo e carboidratos fibrosos aumentaram linearmente ($P < 0,10$). As digestibilidades do extrato etéreo e carboidratos não fibrosos seguiram a mesma tendência, aumentando de forma linear. A produção de leite (PL), PL corrigida para 4% de gordura não foram influenciadas ($P > 0,10$) pela substituição do milho grão pela MGM. Seguindo a mesma tendência, a composição do leite (gordura, proteína, lactose, sólidos totais e escore de células somáticas) também não foi afetada pela inclusão de MGM. Os níveis séricos (HDL, LDL, VLDL, Glicose e triglicérides) não foram influenciados (P

> 0,10), com exceção do colesterol total, que reduziu linearmente com o aumento de inclusão da glicerina bruta. Conclui-se que a MGM pode substituir totalmente o milho grão moído nas dietas de vacas com proporção volumoso: concentrado de 70:30 e produção de até 15 kg de leite.

ABSTRACT

SILVA, Marcelo Valverde da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, november 2012. **CRUDE glycerine inclusion in dairy cows rations.** Advisor: Marcos Inácio Marcondes Co-Advisor: Pedro Veiga Paulino.

The growing concern about global warming and the increasing share of biodiesel in the global energy matrix have increased interest in the cultivation and processing of oil seeds. So that, opportunities for ruminant production through the use of co-products of biodiesel production have been created. Among the wastes, there is glycerine, a triol viscous, colorless, odorless, hygroscopic that is there's ult of the transesterification reaction of a lipid source in the presence of a catalyst and of a short chainalcohol (methanol or ethanol). The aim of this study was to evaluate the effects of inclusion of crude glycerin replaced by corn grain mille din the proportions of 0%, 33.33%, 66.66% and 100%, on the basis of dry matter (DM), on consumption, digestibility, serum, milk production and composition. It was used 12 Holstein cows, distributed in 3 Latin Squares 4 X 4, according to the milk production. The animals were fed in the ratio of 70:30 in roughage and concentrate in dry matter basis. It was used corn siagel as the sole source of roughage. It was carried out the analysis of variance to compare the balance by using the 10% level of probability for type I error. There was not significant effects ($P < 0.1$) for DM, NDF and TDN. The DM and NDF digestibilities have followed these a met rend, with no significant effect ($P < 0.1$) when replaced by 100% of corn by the crude glycerin. The intake and digestibility of crude protein (CP) has decreased linearly. The intake of lipid and non-fiber carbohydrates has increased linearly ($P < 0.1$). The lipids and non fiber carbohydrates digestibilities have followed these a met rend, increasing linearly. Despite the TDN intake has not been influenced significantly ($P < 0.1$), the value of TDN (% of DM) has increased linearly. The Milk production (PL) and PL corrected to 4% fat (PL4G) have not been influenced significantly ($P < 0.1$) with the total replacement of corn grain round by GB. Even though these a met rend has been followed, there was no significant effect ($P < 0.1$) for milk composition (fat, protein, lactose, total solids and somatic cell score). Serum levels (HDL, LDL, VLDL, triglycerides, and glucose) have not

been affected significantly ($P < 0.1$), apart from the total cholesterol, which decreased linearly with increasing inclusion of crude glycerin. It was concluded that MGM can totally replace corn grain ground in the diets of cows with forage: concentrate ratio of 70: 30 and production of up to 15 kg of milk.

INTRODUÇÃO

O Brasil e o mundo estão procurando diversificar as fontes de energia, buscando formas de introduzir a participação de fontes renováveis no abastecimento do mercado interno, para garantir a segurança energética de forma sustentável. O conjunto de interesses em torno dos biocombustíveis impõe a necessidade de uma visão estratégica do processo de inserção de novas alternativas, como o biodiesel, de forma a aproveitar as potencialidades da agricultura como produtora de energia limpa e renovável.

O desenvolvimento de novas tecnologias que transferem a energia contida nos cereais e sementes oleaginosas aos biocombustíveis, conjuntamente com o crescente impacto do custo da energia fóssil, acabou alterando o cenário da agricultura e da produção animal. Grãos são usados para produzir energia (etanol e biodiesel), competindo assim com o homem e os animais por alimento, principalmente aves, suínos e bovinos, que têm o milho e o farelo de soja como principais ingredientes de suas dietas. Assim, diminui a oferta e aumenta-se o custo destes ingredientes. Contudo, na transformação destes grãos em energia, tem-se a produção de subprodutos como, por exemplo, a glicerina bruta.

Atualmente, o protocolo de Kyoto é um instrumento existente na tentativa de se reduzir as emissões de gases nocivos. Na questão da emissão de gases do efeito estufa, Hill et al. (2006) realizaram estudo sobre os custos energéticos, econômicos e ambientais do biodiesel, e observaram que o biodiesel emite 59% do equivalente dos gases do efeito estufa emitidos pelo diesel. No mesmo estudo, os autores avaliaram o balanço energético e verificaram que o biodiesel produz 93% a mais de energia utilizável do que a energia necessária para a sua produção.

No caso específico da glicerina, trata-se um triol viscoso, incolor, inodoro, higroscópico e de sabor adocicado resultante, entre outros, do processo de transformação de um triglicerídeo em biodiesel, a partir de uma reação de transesterificação, na presença de um catalisador e de um álcool de cadeia curta (metanol ou etanol).

Existe uma grande variação na composição da glicerina bruta na literatura, sendo que o conteúdo de glicerol pode variar de 30,5% (Paige, 2009) a 90% (Potu et al., 2009). Já o conteúdo de metanol, em amostras de glicerina bruta nos Estados Unidos variou de 100 ppm a 11.500 ppm (Dasari, 2007). O teor de matéria seca pode variar de 70 (Shin et al., 2009) a 84% (Paige, 2009). Hansen et al (2009) caracterizaram 11 amostras de glicerina bruta oriundas de sete plantas na Austrália e encontraram que o conteúdo de glicerol variou de 38,4% a 96,5%, o de metanol variou de <0,01 a 13,94%, e o teor de matéria seca de 83,9 a 100%.

O Brasil apresenta condições naturais favoráveis para se tornar um importante produtor internacional de biodiesel, em função de possuir grandes áreas disponíveis para a agricultura, com condições de solo e clima adequados ao plantio de oleaginosas. A busca por alternativas renováveis e menos poluentes tende a conferir um importante papel para a agropecuária, seja pela produção de matérias-primas ou pelo aproveitamento de resíduos e subprodutos (co-produtos).

Para cada 90 m³ de biodiesel produzidos, são gerados 10 m³ de glicerina bruta. A mistura de biodiesel ao diesel fóssil teve início em dezembro de 2004, em caráter autorizativo. Em janeiro de 2008, entrou em vigor a mistura legalmente obrigatória de 2% (B2), em todo território nacional. Com o perceptível amadurecimento do mercado brasileiro, esse percentual foi ampliado pelo Conselho Nacional de Política Energética (CNPE) sucessivamente até atingir 5% (B5) em janeiro de 2010, antecipando em três anos a meta estabelecida pela lei nº 11.907, de 13 de janeiro de 2005. Segundo dados da Agência Nacional de Petróleo (ANP), em 2011 foram produzidos 2,7 bilhões de litros de biodiesel, com um volume de 270 milhões de litros de glicerina. Este cenário indica a necessidade de viabilização comercial desse volume extra de glicerina, buscando outras aplicações. Atualmente, a glicerina purificada (com 99,5% de glicerol) é aplicada na indústria de cosméticos, saboaria, e fármacos, setores incapazes de sozinhos, absorverem o volume de glicerina gerado com a produção de biodiesel (Gonçalves et al., 2006). Apesar de a glicerina purificada ser um composto valioso industrialmente, a purificação pode ser antieconômica e insuficiente para consumir o crescimento projetado na produção mundial de glicerina de biodiesel. O uso de

glicerina bruta na alimentação animal pode ser uma maneira de aumentar a eficiência biológica e financeira da produção de biodiesel.

Se a glicerina originada da produção do biodiesel for utilizada na razão de apenas 1% destas rações, isto representaria um consumo potencial de aproximadamente 480 mil toneladas/ano. Estas rações podem representar o maior escoadouro potencial para o excesso de glicerol originado na cadeia produtiva do biodiesel.

Com a perspectiva de redução nos preços, a glicerina apresenta-se como fonte competitiva de alimento energético em relação aos grãos para animais. O glicerol pode ser absorvido na parede do rúmen ou fermentado principalmente a propionato, sendo este o principal precursor gliconeogênico em animais ruminantes. Parte do glicerol que escapa da fermentação e absorção ruminal é absorvido no intestino delgado e metabolizado no fígado a gliceraldeído 3-fosfato, que poderá ser degradado via glicólise para a produção de energia ou produzir glicose via gliconeogênese, dependendo do estado fisiológico do animal (Lin, 1977). Quando a demanda de glicose é alta, como o caso de vacas leiteiras de alta produção no período de transição, o glicerol é usado preferencialmente via gliconeogênese. Em razão disto, a maioria dos estudos científicos sobre o uso da glicerina (purificada) limitaram sua aplicação no tratamento das desordens metabólicas em vacas de leite de alta produção, utilizando baixos níveis na dieta (<5%, na base da MS), sendo amplamente documentado (Johnson et al., 1954; Fischer et al., 1971; 1973; Defrain et, al., 2004). No entanto, existem poucas informações sobre o uso como macro-ingrediente em dietas de ruminantes. Em estudos recentes, pesquisadores americanos avaliaram o uso da glicerina bidestilada de óleos vegetais (99,5% de glicerol) em dietas de vacas de leite de alta produção (37 kg/dia) e concluíram que o glicerol pode ser usado como macro-ingrediente em até 15%, base da MS da dieta, em substituição do milho grão, sem afetar o consumo de matéria seca, a produção e a composição do leite (Donkin & Doane, 2007).

Abughazaleh et al. (2008) avaliaram parâmetros digestivos em vacas que receberam 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 de glicerol. Hess et al. (2008) também confirmaram que a glicerina bruta, quando usada até o nível de 15%, não influenciou a digestibilidade da matéria seca e da fibra da dieta. Resultados apontados por esses mesmos autores indicam que em novilhas pré-púberes, suplementadas com dietas à base de casca de soja, o ganho médio diário foi comparável entre dietas até o nível de inclusão de 25% de glicerina bruta.

Diante do exposto, é fato que a glicerina purificada (99,5% de glicerol) pode ser usada na alimentação de vacas leiteiras, até o nível de 15% em base da matéria seca, sem que haja prejuízo no consumo de matéria seca e na produção e composição do leite. Mas, estudos sobre a viabilidade biológica do uso da glicerina bruta na alimentação de vacas leiteiras ainda são poucos, o que limita o uso deste ingrediente na alimentação animal.

Assim, este trabalho foi desenvolvido para avaliar o efeito da inclusão da glicerina bruta em substituição ao milho grão nas proporções de 0%; 33,33%; 66,66% e 100% na matéria seca do concentrado, em dietas com relação 70:30 de volumoso: concentrado, sobre o consumo, digestibilidade dos componentes da dieta, o desempenho produtivo, composição do leite, níveis séricos de glicose, HDL, LDL, VLDL, triglicérides e colesterol total em vacas em período de final de lactação, com produção média diária de 15 kg de leite.

OBJETIVO

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar os efeitos do aproveitamento da glicerina bruta, oriunda da agroindústria do biodiesel, corrigida com um co-produto do beneficiamento do milho, sobre o consumo alimentar, níveis de colesterol total, HDL, LDL, VLDL, glicose e triglicérides, digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes, produção e composição do leite de vacas em final de lactação de médio potencial produtivo.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Gado de Leite, do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, no período de fevereiro a abril de 2011. Foram utilizadas 12 vacas da raça Holandesa, distribuídas em três quadrados latinos 4 x 4. Utilizaram-se animais em período de final de lactação. A dieta foi formulada com relação 70:30 de volumoso: concentrado, tendo a silagem de milho como fonte exclusiva de volumoso e os concentrados experimentais formulados à base de milho moído, farelo de soja, uréia e mistura mineral.

O experimento foi constituído por quatro períodos, com duração de 14 dias cada, sendo os dez primeiros dias dedicados à adaptação às dietas e os demais para coleta de dados. Os animais foram alimentados com quatro dietas experimentais referentes a quatro proporções de substituição do milho grão (MG) pela glicerina bruta, corrigida em proteína com co-produto do beneficiamento do milho (Mazoferm), na base de 12% de mazoferm e 88% de glicerina bruta (MGM). As substituições foram de 0%, 33,3%, 66,6% e 100% do milho no concentrado, que corresponderam respectivamente a 0, 4, 8 e 12 % de inclusão de MGM na matéria seca total da dieta (Tabelas 1 e 2). As dietas foram formuladas para serem isoproteicas e isoenergéticas, com 16% de proteína bruta e 66% de NDT (Tabela 3), de forma a atender as exigências nutricionais de uma vaca de 600 kg de peso corporal, produzindo 20 kg/dia de leite com 4,0% de gordura (NRC 2001).

A silagem, a ração concentrada, a glicerina e o mazoferm foram pesados separadamente e misturados dentro do cocho dos animais no momento do fornecimento da alimentação. Os animais foram manejados em baias individuais, tipo "Tie Stall", onde receberam alimentação fornecida *ad libitum* duas vezes ao dia, às 6:00 e às 15:00 horas.

No período de coleta, foram feitas pesagens e amostragens diárias de silagem de milho e das rações concentradas fornecidas e das sobras de cada animal. As amostras foram armazenadas a -20° C para posteriores análises químicas.

Tabela 1- Proporção dos ingredientes na dieta total, em porcentagem na matéria seca.

Ingredientes	Substituição do milho grão pela MGM (%MS)			
	0%	33,30%	66,60%	100,00%
Silagem de milho	69,40	69,50	70,00	70,82
Farelo de soja	11,68	12,30	12,82	13,23
Milho grão moído	14,70	10,04	5,07	0
Glicerina (MGM)	0	4,00	8,00	12,00
Uréia	1,69	1,73	1,75	1,78
Sulfato de Amônio	0,56	0,55	0,51	0,50
Sal comum (NaCl)	0,54	0,41	0,28	0,14
Calcário	0,68	0,69	0,70	0,71
Fosfato Bicálcico	0,65	0,67	0,67	0,68
Premix mineral ¹	0,064	0,064	0,065	0,065
Vitamina ADE	0,036	0,036	0,038	0,038
Palatabilizante de melão	0,026	0,026	0,027	0,027
Monenzina	0,005	0,005	0,005	0,005

¹Premix Mineral: Magnésio-1,29%; Sódio-0,04%; Potássio-0,07%; Enxofre-4,46%; Cloro-0,05%; Cobalto-1.000 ppm; Cobre-20.000 ppm; Iodo-1200 ppm; Manganês-7.000 ppm; Selênio-600 ppm; Zinco-80.000 ppm.

Tabela 2- Composição química prevista dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais

Itens ¹	Alimentos					
	Silagem de Milho	Milho Grão	Farelo de Soja	Glicerina Bruta	Mazoferm	MGM ²
MS (%)	30,77	89,00	88,43	74,62	50,00	71,66
MO (%MS)	95,02	99,60	93,92	92,52	73,00	90,18
PB (%MS)	8,3	9,20	50,70	0,18	43,00	5,32
EE (%MS)	0,99	4,15	1,58	6,94	1,80	6,33
FDNcp (%MS)	56,64	15,88	16,54	0,00	0,00	00,00
CNF (%MS)	31,87	69,16	25,11	84,91	21,80	77,34

MS= Matéria seca; MO= Matéria Orgânica; PB= Proteína bruta; EE= Extrato Etéreo; FDNcp= Fibra em detergente neutro corrigido para cinza e proteína; CNFcp= Carboidrato não fibroso corrigido para cinza e proteína, ²Mistura Glicerina mazoferm.

Tabela 3- Composição Química media das dietas experimentais ofertadas

Itens ¹	Substituição do milho grão pela MGM (%MS)			
	0	33,33	66,66	100,00
MS (%)	47,84	47,11	46,48	45,78
MO (%MS)	93,59	92,90	93,32	92,096
PB (%MS)	16,27	16,80	16,15	16,24
EE (%MS)	0,98	1,19	1,41	1,63
FDNcp (%MS)	41,41	40,99	40,34	40,06
FDNi (%MS)	11,38	11,26	11,37	11,06
CNF (%MS)	38,07	37,12	38,31	38,34

¹MS= Matéria seca; MO= Matéria Orgânica; PB= Proteína bruta; EE= Extrato Etéreo; FDNcp= Fibra em detergente neutro corrigido para cinza e proteína; FDNi= Fibra em detergente neutro indigestível; CNF= Carboidratos não Fibrosos.

As fezes foram coletadas diretamente na ampola retal, uma vez ao dia, às 8:00, 10:00, 12:00, 14:00 horas, do 11º dia ao 14º dias de cada período experimental, respectivamente.

As amostras de silagem de milho e de fezes foram secas em estufa com ventilação forçada (55°C por 72 horas) e, juntamente com os alimentos, processadas em moinhos de facas com peneiras de porosidade de 1 mm para análises químicas. Das amostras diárias de fezes secas ao ar de cada animal, em cada período, foram feitas amostras compostas.

A quantidade total de MS fecal excretada foi estimada pela concentração de fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), obtidas após incubação ruminal dos alimentos, sobras e fezes em sacos F57 (Ankon®) por 264 horas (Casali et al., (2008).

As análises dos teores de MS foram realizadas segundo métodos descritos em Silva & Queiroz (2002) [Método INCT-CA G-003/1 (2012)]. Para análises de PB (nitrogênio total x 6,25), o método utilizado foi INCT-CA N001/1. Para análises da concentração de fibra em detergente neutro (FDN), as amostras foram tratadas com alfa amilase termoestável sem uso de sulfito de sódio e aquecidas em autoclave a temperatura de 105°C, corrigidas para o resíduo de cinzas e proteína (Método INCT-CA F-002/1). As análises de FDN foram realizadas em analisador de fibra (Ankon 220®), utilizando sacos de TNT (tecido não tecido), com dimensões de 5 x 5 cm, mantendo-se relação média de 20 mg de MS/cm² de tecido e 100 mL de detergente/g de amostra seca ao ar (Método INCT-CA F-003/1).

Os teores de carboidratos não fibrosos (CNF) das dietas foram calculados adaptando-se o proposto por Detmann et al., 2010, sendo a equação final: $CNF = MO - [EE + FDN_{cp} + (PB - P_{Bu} + U)]$, em que MO = teor de matéria orgânica (%); EE = teor de extrato etéreo (%); FDN_{cp} = teor de fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (%); PB = teor de proteína bruta (%); P_{Bu} = teor de proteína bruta oriunda da uréia (%); U = teor de uréia. Os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram calculados com adaptações ao descrito por Weiss (1999), pela

seguinte equação: $NDT (\%) = PBD + FDN_{cpD} + CNFd + 2,25 EED$, em que: PBD = proteína bruta digestível; FDN_{cpD} = fibra em detergente neutro digestível, corrigida para resíduos de cinzas e proteína; CNFd = carboidratos não fibrosos digestíveis, EED = extrato etéreo digestível.

As vacas foram ordenhadas mecanicamente, duas vezes ao dia, fazendo-se o registro de produção de leite do 11^o ao 14^o dia de cada período experimental. Por meio de um dispositivo acoplado a ordenhadeira, foram coletadas amostras de leite, aproximadamente 300 mL, no 12^o e 13^o dia, nas ordenhas da manhã e da tarde, fazendo-se amostras compostas de cada dia de forma proporcional à produção de leite daquele dia. Foram retiradas, de cada amostra composta, uma alíquota de 50 mL, e acondicionada em frasco plástico com conservante (Bromopol), mantidos entre 2 e 6^o C, e encaminhada para o Laboratório de Análises de Leite do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, para avaliação dos teores de lactose, gordura, proteína, extrato seco total e contagem de células somáticas.

A produção de leite (PL) corrigida para 4% de gordura (PLC) foi calculada segundo Sklan et al. (1992), pela seguinte fórmula: $PLC = (0,432 + 0,1625 \times \% \text{gordura do leite}) \times \text{produção de leite em kg/dia}$.

As amostras de sangue foram coletadas por punção da veia coccígea, utilizando tubos de ensaio com fluoreto de sódio para análise de glicose, colesterol total, HDL, LDL, VLDL e triglicérides, feitas em laboratório particular (Laborguima) na cidade de Viçosa, MG.

Os dados foram submetidos a análise de variância, utilizando-se o procedimento PROC MIXED do programa *Statistical Analysis System* (SAS, 1989). Os dados foram avaliados segundo delineamento em quadrado latino, sendo os níveis de inclusão de glicerina avaliados como efeitos quantitativos fixos e o período, animal, quadrado latino e interação tratamento x quadrado latino avaliados como efeitos aleatórios. Foram testados efeitos lineares e quadráticos dos níveis de inclusão de glicerina sobre as variáveis dependentes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve efeito significativo dos níveis de glicerina ($P>0,10$) sobre os consumos de MS, FDN e NDT (Tabela 4). Os resultados de consumo de matéria seca, de produção e composição do leite são semelhantes àqueles observados por Donkin & Doane (2007), que avaliaram o uso da glicerina bidestilada de óleos vegetais (99,5% de glicerol) em dietas de vacas de leite de alta produção (37 kg/dia) e concluíram que o glicerol pode ser usado como macro-ingrediente em até 15%, na base da MS da dieta, em substituição do milho grão, sem afetar o consumo de matéria seca, a produção de leite. Todavia foi verificado por San Vito et al. (2010) uma redução no consumo de matéria seca a partir de 33,33% de substituição do milho grão pela glicerina bruta, que pode ser uma resposta metabólica decorrente do aumento da produção e absorção de propionato produzido durante a fermentação do glicerol no rúmen (Remind et al, 1993, Bergner et al., 1995).

Tabela 4- Consumo de nutrientes, digestibilidade total e teores de nutrientes digestíveis totais (NDT) em função dos níveis de substituição de milho grão pela glicerina bruta (MGM) nas dietas.

Itens ¹	Substituição do milho pela MGM				Valor P		Equação
	0	33,33	66,66	100,00	L	Q	
CMS (kg/d) ¹	14,32	13,98	13,93	13,58	0,116	0,993	Y = 14,23
CPB (kg/d)	3,09	2,73	2,44	2,02	0,007	0,707	Y = 3,095 - 0,0105xSB
CFDN(kg/d)	5,42	5,23	5,26	5,01	0,124	0,762	Y = 5,37
CEE (kg/d)	0,14	0,18	0,22	0,25	0,0004	0,589	Y = 0,1426 + 0,001123xSB
CCNF(kg/d)	4,69	4,95	5,24	5,61	0,0047	0,363	Y = 4,6675 + 0,009145xSB
CNDT(kg/d)	8,27	8,51	8,71	8,87	0,1147	0,844	Y = 8,4139
DMS (%)	59,65	62,01	62,91	63,04	0,121	0,361	Y = 60,90
DPB (%)	72,51	73,32	70,59	65,08	0,055	0,126	Y = 74,048 - 0,073xSB
DFDN (%)	42,36	45,18	44,72	44,70	0,489	0,482	Y = 44,1942
DEE (%)	65,82	70,77	78,80	82,41	0,0216	0,766	Y = 65,7739 + 0,174xSB
DCNF (%)	75,58	79,08	83,34	84,17	0,0222	0,501	Y = 75,899 + 0,08851xSB
NDT (%)	58,55	61,34	63,81	64,66	0,0315	0,3792	Y = 58,9382 + 0,0635xSB

¹CMS= Consumo de matéria seca; CPB= Consumo de proteína bruta; CFDN= Consumo de fibra em detergente neutro; CEE= Consumo de extrato etéreo; CCNF= Consumo de carboidrato não fibroso; CNDT= Consumo de NDT; DMS= Digestibilidade da matéria seca; DPB= Digestibilidade da proteína bruta; DFDN= Digestibilidade da fibra em detergente neutro; DEE= digestibilidade do extrato etéreo; DCNF= Digestibilidade do carboidrato não fibroso; NDT (%)= Porcentagem de nutrientes digestíveis totais.

As digestibilidades de MS e FDN seguiram a mesma tendência do consumo de matéria seca, não havendo efeito ($P < 0,10$) com substituição de até 100% do milho grão pela MGM, fato também confirmado pelo trabalho de Abughazaleh et al. (2008), que avaliaram que a incorporação de glicerol até o nível de 15% em substituição ao milho não afetou a digestibilidade da fibra. Como a inclusão neste trabalho foi de até 12%, confirma-se a conclusão dos autores.

O consumo de PB reduziu de forma linear com a inclusão de MGM na dieta. Esta diminuição ocorreu, provavelmente, pela seleção dos alimentos no cocho feito pelos animais, em razão do sabor amargo do mazoferm, uma vez que, segundo Teixeira (1998), os ruminantes são sensíveis a soluções amargas. Segundo o NRC (1989), um dos fatores que pode influenciar o consumo de MS é o fator psicogênico caracterizado pela influência do alimento, neste caso, a palatabilidade. De acordo com Mertens (1994), a ingestão de matéria seca é controlada por fatores fisiológicos, físicos e psicogênicos. O mecanismo físico está relacionado com a distensão do rúmen-retículo devido ao enchimento causado pelo alimento, especialmente a fibra, pois a FDN está diretamente relacionada ao enchimento, embora, a concentração deste nutriente não tenha sido diferente entre as dietas. Mesmo com o menor consumo de PB, não houve efeito na produção de leite e no teor de proteína do leite. A ração foi formulada para atender às exigências de 20 kg de leite/dia, que corresponde a 2,3 kg de PB, a qual era a produção no início do experimento. Os animais se apresentavam em final de lactação e após 60 dias, obteve-se uma média de produção diária de 15 kg de leite/dia, tendo uma exigência de 2,0 kg de PB. Portanto, mesmo com um menor consumo de PB houve uma equiparação na produção de leite e no teor de proteína do leite.

Seguindo a mesma tendência do consumo de PB, ocorreu uma redução linear da digestibilidade da PB, o que pode estar relacionado ao processo de obtenção do mazoferm. O mazoferm é um co-produto do beneficiamento do milho e para obtenção deste ingrediente, a massa de grãos de milho selecionada e limpa permanece em maceração, imersa em água sulfitada a 45° C por no mínimo 24 horas. Após este período o grão segue para processamento e a água residual

é bombeada para uma bateria de evaporadores. Nos evaporadores ela passa por três estágios, em que chega a alcançar 125° C, passando por uma concentração de 6% para 45 a 50% de MS. Assim, devido ao processo de obtenção do mazoferm, o tratamento térmico pode ter reduzido a digestibilidade da proteína bruta. Para Heidenreich (1994), o excesso de calor torna indisponível parte da proteína e de aminoácidos, principalmente devido à reação de Maillard e à desnaturação proteica, levando a perdas da função biológica dos alimentos.

O consumo de EE aumentou ($P < 0,10$) de maneira linear, que pode ser atribuído ao fato de o teor dietético total de EE ter aumentado à medida que se elevou o nível de MGM da dieta. Apesar de uma tendência de queda no consumo de MS, este não foi significativo ($P > 0,10$) à medida que se aumentou o consumo de extrato etéreo. Isto pode ser explicado em função de o nível de EE não ter ultrapassado 5% da MS da dieta. A digestibilidade do EE aumentou de forma linear. Essa diferença de digestibilidade do extrato etéreo da dieta pode ser pela composição da glicerina bruta ou da fonte de matéria-prima ou do processo de produção do biodiesel que deu origem a glicerina utilizada. De acordo com o NRC (2001) o aumento no grau de insaturação de ácidos graxos fornecidos na dieta pode aumentar a digestibilidade de ácidos graxos, porém reduções no consumo de matéria seca, porcentagem de gordura no leite e digestibilidade da fibra são indicadores que a fermentação ruminal foi alterada pela suplementação de gordura. A digestibilidade dos ácidos graxos é influenciada pelo CMS, pela quantidade de gordura ingerida, pelas características da dieta basal e da fonte de gordura utilizada (NRC, 2001), e pelo grau de insaturação dos ácidos graxos presentes nas fontes de gordura (Grummer, 1995; Staples et al., 1998). Allen (2000) enfatizou que respostas diferentes são esperadas com diferentes suplementos de gordura, pois os efeitos da suplementação são inerentes às características físicas e químicas específicas dos ácidos graxos suplementados.

Houve aumento linear do consumo de CNF da dieta com a substituição do milho pela MGM, mesmo com a dieta apresentando os mesmos teores de CNF nos diferentes níveis de substituição. A explicação, provavelmente, pode estar relacionada à questão de seleção dos animais pelo alimento mais palatável, pois a

palatabilidade em um alimento terá um efeito positivo sobre a combinação de sinais que controlam a ingestão de alimentos, e algumas vezes provocam aumento prolongado sobre a ingestão (Teixeira 1998). A glicerina é um ingrediente que pode melhorar a palatabilidade do concentrado por causa de seu aroma suave e sabor adocicado (Elam et al., 2008), além disto, possui um alto teor de CNF (Tabela 2), o que pode ter elevado consumo de CNF de forma linear.

A digestibilidade do CNF seguiu o mesmo comportamento, tendo aumentado linearmente com a inclusão da MGM na dieta. Possivelmente, o CNF (glicerol) contido na glicerina possui uma digestibilidade superior à do milho (amido). O glicerol é rapidamente absorvido no epitélio ruminal ou fermentado a propionato no rúmen (Krehbiel, 2008). Vários outros trabalhos comprovam a alta digestibilidade do glicerol. Kijora et al. (1998) demonstraram, em novilhos, que a infusão ruminal de 200 g de glicerina, aumentou o glicerol no plasma em comparação com novilhos não infundidos (0,06 mm - 0,19 mm) e 85% da glicerina desapareceu em 2 horas, não sendo detectada no duodeno. Kristensen & Raun (2007) mediram a absorção da glicerina e o metabolismo do glicerol no fígado de vacas que receberam por cânula ruminal 925g/dia de glicerina, com 85% de glicerol. Os autores recuperaram, na veia porta, 10% do glicerol administrado, que foi quase todo absorvido pelo fígado e convertido em glicose e, o glicerol não recuperado na veia porta, presumivelmente, foi convertido a propionato, no rúmen, contribuindo com a gliconeogênese.

Tabela 5- Produção de leite (PL) e produção de leite corrigida para 4% de gordura (PL 4G) e composição do leite (gordura, proteína, lactose, sólidos totais e células somáticas) em função dos níveis de substituição de milho grão pela glicerina bruta nas dietas.

Itens	Substituição do milho pela MGM				Valor <i>P</i>		Equação
	0%	33,33%	66,66%	100,00%	L	Q	
PL (Kg/d)	15,36	15,48	15,08	14,60	0,272	0,5230	Y= 15,13
PL 4G (Kg/d)	15,90	15,46	15,12	15,10	0,458	0,6805	Y= 15,63
Proteína (%)	3,22	3,19	3,20	3,24	0,661	0,3655	Y= 3,21
Gordura (%)	4,26	4,01	4,04	4,27	0,924	0,2356	Y = 4,15
Lactose (%)	4,20	4,19	4,17	4,13	0,138	0,6439	Y= 4,19
Sólidos Totais (%)	12,80	12,48	12,52	12,79	0,968	0,1911	Y= 12,65
ECS (CCS X 1000/mL)	2,95	3,18	2,94	2,92	0,785	0,6884	Y= 3,00

PL= Produção de leite; PL 4G= produção de leite corrigida para 4% de gordura; ECS= Escore de células somáticas.

A produção de leite (PL) e PL corrigida para 4% de gordura (PLC) não apresentaram efeito ($P>0,10$) com a substituição do milho grão pela MGM (Tabela 5), o que pode ser explicado pelo fato de os animais se apresentarem em final de lactação, em balanço energético positivo. Soma-se o fato de a dieta ter sido formulada para atender às exigências de produção de 20 kg de leite/dia. Como os animais do experimento se apresentavam em período de final de lactação, a produção média foi de 15 kg de leite/dia. Contudo, as exigências nutricionais dos animais foram atendidas, não apresentando efeito significativo para a produção de leite. Donkin e Doane (2007), também não encontraram efeito significativo ($P>0,10$) na produção e composição do leite, em vacas alimentadas com níveis de até 15% de glicerol em base da MS, adicionado em substituição ao MG nas dietas. Outros trabalhos onde menores níveis de inclusão de glicerol ($<10\%$ na MS) foram utilizados e também não encontraram diferença significativa sobre a produção de leite (Khalil et al., 1997; Defrain et al., 2004 e Al Bodarski et al., 2005).

A composição do leite não foi afetada pela adição da MGM nas dietas ($P>0,10$). Apesar do maior CPB, a adição extra de proteína na alimentação, independente da degradabilidade ruminal, apresenta um efeito pouco significativo na porcentagem de proteína no leite, embora possa aumentar a sua produção devido ao aumento na produção de leite (González et al. 2001). Os fatores ambientais que afetam o teor de lactose no leite têm sido pouco estudados, talvez por sua menor importância na produção de queijos e outros derivados lácteos ou por sua menor variação de acordo com os fatores nutricionais e ambientais (Sutton, 1989).

A gordura do leite não foi afetada com a inclusão da MGM, apesar de alguns estudos sugerirem aumento da proporção de propionato no metabolismo ruminal do glicerol (Johns et al., 1953; Garton et al., 1961). Possivelmente este aumento não foi suficiente para alterar o teor de gordura do leite entre os tratamentos, pois para que o teor de ácido propiônico exerça efeito significativo sobre o teor de gordura deve estar em porcentagem molar maior que 25% (Linn 1991). Existe uma relação positiva entre a taxa molar Acetato/Propionato e o teor de gordura do leite. Ocorre um aumento linear na gordura do leite à medida que a

taxa Acetato/Propionato cresce até 2,2. Acima de 2,2 ocorre pequeno aumento no teor de gordura do leite (Linn, 1991).

Tabela 6- Níveis séricos (Colesterol Total, HDL, LDL, VLDL, Glicose e Triglicérides) em função dos níveis de substituição de milho grão pela glicerina bruta nas dietas.

Itens	Substituição do milho pela MGM				Valor <i>P</i>		Equação
	0%	33,3%	66,66%	100,00%	L	Q	
Glicose (mg/dL)	58,70	58,89	58,26	59,16	0,936	0,796	Y = 58,75
HDL (mg/dL)	69,48	70,63	69,08	62,72	0,284	0,231	Y = 70,04
LDL (mg/dL)	39,70	34,25	33,12	35,98	0,535	0,370	Y = 35,76
VLDL (mg/dL)	2,77	3,33	2,68	2,55	0,499	0,429	Y = 2,83
TG (mg/dL)	14,60	13,40	13,43	12,88	0,318	0,827	Y = 13,50
CLT (mg/dL)	112,99	111,65	105,84	99,85	0,091	0,552	Y=114,42-0,14xSB

CLT= Colesterol total; TG= Triglicérides

A concentração de glicose sanguínea (mg/dL) não foi afetada ($P>0,10$) pela inclusão de MGM (Tabela 6). A glicose é um metabólito que representa a via metabólica da energia. No entanto, ela é pouco sensível às variações do aporte de energia na ração, uma vez que a concentração sanguínea é regulada por um eficiente mecanismo hormonal destinado a manter constantes as concentrações de glicose. Por isso, o déficit de energia deve ser muito intenso para que diminua a concentração de glicose sanguínea (Rowlands, 1980; Gonzáles & Silva, 2003).

Os níveis de HDL, LDL, VLDL e triglicérides não apresentaram efeito significativo ($P>0,10$) com a inclusão da glicerina bruta (Tabela 6), mesmo com os maiores teores e digestibilidade de EE nas dietas das vacas.

A concentração do colesterol total reduziu linearmente com o aumento da inclusão da MGM, o que pode ser explicado por uma possível redução na relação acetato: propionato decorrente da fermentação do glicerol. Estudos clássicos sugerem que a metabolização ruminal de glicerol resulta em aumento da proporção de propionato (Johns et., 1953; Garton et al., 1961). Estudos mais recentes têm demonstrado que a fermentação ruminal de glicerol também é capaz de reduzir a proporção de acetato no fluido ruminal (Remond et al., 1993; Krehbiel, 2008; Potu et al., 2009). Segundo (Kaneko, (1989), a síntese do colesterol ocorre a partir do acetil-CoA, que por sua vez, provém do ácido acético produzido no rúmen pela fermentação da fibra da dieta, dependendo do estado nutricional. A não interferência do nível de lipídeo, dentro das dietas com alto concentrado, na

concentração sérica de colesterol dos animais, pode estar relacionada à menor produção de acetato e à maior de propionato, induzidas por estas dietas, associado a uma possível ação lipogênica da insulina, estimulada pela maior produção de propionato, conforme sugerido por Mc Clymont (1962). Segundo VAN DER WALT (1984), o acetato tem origem na fermentação ruminal, sendo 80% de todo o acetato circulante no organismo de ruminante utilizado no metabolismo energético, presumivelmente para a síntese de compostos como ácidos graxos, colesterol e caroteno (Perthick et al.,1981). Entretanto, os mecanismos e fatores determinantes da síntese do colesterol a partir do acetato não estão esclarecidos, sendo pertinente sugerir correlação da produção de acetato de origem ruminal, em função das dietas fornecidas, com a síntese de colesterol. Neste sentido, observou-se que as dietas com maior nível de substituição do milho pela MGM, portanto, supostamente com maior produção de propionato e menor de acetato, proporcionaram aos animais, em média, menor ($P < 0,10$) concentração de colesterol, sugerindo menor disponibilidade do acetato para a síntese de colesterol.

A perspectiva de grandes sobras de glicerina, co-produto da produção de biodiesel torna interessante sua aplicação na agropecuária e nesse sentido devem ser desenvolvidos mais estudos para desvendar todas as possíveis aplicações e benefícios gerados pela glicerina. Paralelamente para que estas alternativas sejam sustentáveis mais pesquisas e esforços devem ser implementados com o objetivo de obter uma fonte de lipídeo não conflitante com a alimentação humana. Faz-se necessário também que seja estabelecido um padrão de qualidade das glicerinas, devido à diversidade de processos de obtenção do biodiesel e fontes de lipídeos utilizados, observando-se grandes variações nos teores de água, extrato etéreo e sais principalmente o cloreto de sódio (NaCl). A glicerina de biodiesel tem características interessantes como alta energia disponível, sabor adocicado e disponibilidade, podendo ser acrescentada em farelos protéicos para equilibrar rações de aves, suínos e ruminantes. Neste presente trabalho iríamos avaliar um outro possível benefício da GB, que é sua capacidade aglutinante, o que provavelmente melhoraria a qualidade dos peletes das rações peletizadas, mas no

processo produtivo da fábrica de ração onde foi misturado o concentrado, conseguimos um nível máximo de inclusão de 4% de MGM. Acima desta concentração os equipamentos da fábrica não conseguiram misturar o concentrado, pois ocorreu um embuchamento dentro do misturador. Por este motivo, no experimento, a GB e o Mazoferm foram incluídos no cocho no momento do trato.

CONCLUSÕES

Concluiu-se que uma mistura de glicerina mais mazoferm pode substituir totalmente o milho grão moído nas dietas de vacas com produção de até 15 kg de leite e relação volumoso: concentrado 70:30. Sendo o seu uso unicamente dependente da disponibilidade, preço e mão-de-obra.

LITERATURA CITADA

- 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.
- AL BODARSKI, R., WERTELECKI, T. BOMMER, F., GOSIEWSKI, S. The changes of metabolic status and lactation performance in dairy cows under feeding TMR with glycerin (glycerol) supplement at periparturient period. **Electronic Journal of Polish Agricultural Universities**, Animal Husbandry, 8:1- 9, 2005
- ALLEN, M. S., BRADFORD, B. J. Metabolic regulation of feed intake in cattle: a conceptual model. **Journal of Animal Science**. 87: 3317-3334, 2009.
- ALLEN, M. S. Effects of diet on short term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, V.83. N.7, p. 1598-1630, 2000.
- BERGNER, H.; KIJORA, C.; CERESNAKOVA, Z.; SZAKACS, J. In vitro studies on glycerol transformation by rumen microorganisms. **Archives Tierernahrung**, Berlin, v.48, n. 3, p.245-256, 1995.
- CALDAS NETO, S.F; ZEOULA, L.M; BRANCO, A.F. et al. Mandioca e resíduos das farinhas na alimentação de ruminantes: digestibilidade total e parcial. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n.6., (sup.1), p. 2009-2108, 2000.
- CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Influencia do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.2, p.335-342, 2008.
- DASARI, M. Crude glycerol potential described: While glycerol can be an attractive energy source for animal feedstuffs, Minnetonka, V.4, p.16-19, oct. 2007.
- DEFARIN, 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: Tri State Dairy Conference, p.97-103, 2007. Disponível em:

- [www.http://tristatedairy.osu.edu/proceedings.htm](http://tristatedairy.osu.edu/proceedings.htm). DROUILLARD, J.S. Glycerin as a feed for ruminants.
- DROUILLARD, J.S. Glycerin as a feed for ruminants: using glycerin in high-concentrate diets. **Journal of Animal Science**, v.86, E-Suppl.2, p.392, 2008.
- ELAM, N.A.; ENG., K.S.; BECHTEL, B. et al. Glycerol from Biodiesel Production: Considerations for feedlot diets. **Proceedings of the Southwest Nutrition Conference. Tempe AZ**. n.21, 2008.
- FISHER, L.J.; ERFLE, J.D.; LODGE, G.A. et al. Effects of propylene glycol or glycerol supplementation of the diet of dairy cows on feed intake, milk yield and composition, and incidence of ketosis. **Canadian Journal of Animal Science**, v.53, p.289–296, 1973.
- FISHER, L.J.; ERFLE, J.D.; SAUER, F.D. Preliminary evaluation of the addition of glucogenic materials to the rations of lactating cows. **Canadian Journal of Animal Science**, v.51, p.721–727, 1971.
- FONSECA, F. A. Fisiologia da Lactação. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Zootecnia. Vicosa-MG: UFV. 1995. 137p.
- GARTON, G.; LOUGH,; VIOQUE, E. Glyceride hydrolysis and glycerol fermentation by sheep rumen contents. **Journal of General Microbiology**, London, v.25, p.215-225, 1961.
- GONÇALVES, V.L.C.; PINTO, B.P.; MUSGUEIRA, L.C. et al. Biogásolina: Produção de ésteres da glicerina. In: I Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel, 2006, Brasília. **Anais...** Brasília: MCT/ABIPTI, 2006. v.2. p.14 -19.
- GONZALES FHD.; SILVA S.C. Introdução à bioquímica clínica animal. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003, 198 p.
- GRUMMER, R.R. Impact of changes in organic nutrients metabolism on feeding the transition cow. **Journal of Animal Science**, V. 73, p.2820-2833, 1995.
- HALL, M.B. Calculation of non-structural carbohydrate content of feeds that contain non protein nitrogen. **University of Florida**, 2000. P.A-25 (Bulletin 339, April-2000). 29.

- HANSEN, C.F.; HEMANDEZ, A.; MULLAN, B.P.; MOORE, K.; TREZONA-MURRAY, M.; KING, R.H.; PLUSKE, J.R. A chemical analysis of samples of crude glycerol from the production of biodiesel in Australia, and the effects of feeding crude glycerol to growing-finishing pigs on performance, plasma metabolites and meat quality at slaughter. **Animal Production Science**, Amsterdam, v.49, n2, p.154-161, jan. 2009.
- HEIDEREICH, E. Operation strategies for expansion cooking. Feed mix, V.2, p. 32-34, 1994.
- HESS, B.W.; LAKE, S.L.; GUNTER, S.A. Using glycerin as a supplement for forage-fed ruminants. **Journal of Animal Science**, v.86, E-Suppl.2, p.392-393, 2008.
- ILLIUS, A. W. and JESSOP, N. S. Metabolic constraints on voluntary intake in ruminants. **Journal of Animal Science**. 74: 3052-3062, 1996.
- JOHNS, A. T. Fermentation of glycerol in the rumen of the sheep. **New Zealand Journal Science Technology**, Wellington, v.35, n.4, p.262-269, 1953.
- JOHNSON, M.M.; PETERS, J.P. Technical Note: An improved method to quantify nonesterified fatty acids in bovine plasma. **Journal of Dairy Science**, v.71, p.753-756, 1993.
- JOHNSON, R.B. The treatment of ketosis with glycerol and propylene glycol. **Cornell Vet**. v.44, p.6–21, 1954.
- JONKER, J.S.; KOHN, R.A.; ERDMAN, R.A. Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.2681-2692, 1998.
- KANEKO, J.J. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. Academic Press. 4 ed. San Diego, p877-901, 1989.
- KHALILI, H., VARVIKKO, T., TOIVONEN, V., HISSA, K., SUVITIE, M. The effects of added glycerol or unprotected free fatty acids or a combination of the two on silage intake, milk production, rumen fermentation and diet digestibility in cows given grass silage based diets. **Agriculture and Food Science**. Finland. 6:349–362, 1997.

- KIJORA, C.; BERGIER, H.; GOTZ, K.P. Et al. Research note: Investigation on the metabolism of glycerol in the rumen of bulls. **Archiv fur Tierernahrung**, v.51, p.341-348, 1998.
- KREHBIEL, C.R. Ruminal and physiological metabolism of glycerin. Symposium: Ruminant Nutrition: Glycerin as a Feed for Ruminants, **Journal of Animal Science**. Vol. 86, p-392, 2008.
- KRISTENSEN, N.B.; RAUN, B.M.L.. Ruminal fermentation, portal absorption, and hepatic metabolism of glycerol infused into the rumen of lactating dairy cows, In: ENERGY AND PROTEIN METABOLISM AND NUTRITION- International Symposium on Energy and Protein Metabolism and Nutrition, 2. Ortiques-Marty, **proceedings...** Marty: EAAP Publication. Wageningen Academic Publishers. P.355-356, 2007.
- LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; VAN SOEST, P.J. Standardization of procedures for fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.57, n.4, p.347-358, 1996.
- LIN, E. C. C. Glycerol utilization and its regulation in mammals. *Annu. Rev. Biochem.* 46:765–795, 1977.
- LINN, J.G. Altering the composition of milk through Management Practice. **Feedstuffs**, EUA, v.61, n.17, p.18-23, jun.1991.
- Mc. CLYMONT, G.L.; VALLANCE, S. Depression of blood glycerides and milk fat synthesis by glucose infusion. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 21, p.151, 1962.
- MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in with refluxing in beaker or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.85, p.1217-1240, 2002.
- MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In FAHEY Jr., G.C., (Ed.) Forage quality, evolution and utilization. American Society of agronomy. NATIONAL CONFERENCE ON FORAGE QUALITY, EVALUATION AND UTILIZATION, P.450-493, 1994.

- MOORE, D.A.; VARGA, G. BUN and MUN: Urea nitrogen testing in dairy cattle. **Compendium Continuing Education Veterinary**, v.18, n.6, p.712-721, 1996.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. . Washington, DC: National Academy Press, 2001. 381p. 30
- OSBORNE, V. R., OGONGO, N, E.,CANT, J. P. SWANSON, K. C. McBRIDE. Effects of supplementing glycerol and soybean oil in drinking water on feed and water intake, energy balance, and production performance of periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, 92: 698-707, 2009a.
- PAIGE, G. Variation in the chemical composition of Crude glycerin: the knowledge bank at OSU. Disponível em <<http://hdl.handle.net/1811/37082>>.
- PIRES, A.V. Efeito da inclusão de fontes de amido e silagem de milho em dietas à base de cana de açúcar na digestibilidade de nutrientes e na produção de leite de vacas holandesa. Piracicaba: Escola superior de agricultura Luiz de Queiroz, 1999, 120p. Tese (Livre Docente em Produção Animal).
- POTU, R.B; ABUGHAZALEH, ; HASTINGS, D.; ABOEL-NOR,S.; IBRAHIM, S. The effects of feeding glycerol on rumen fermentation and bacteria. **Journal of Dairy Science**, Champaign, V.92, p. 89, jan. 2009.
- REMIND, B., SOUDAYR, E., JOUANY, J. P. In vitro and in vivo fermentation of glycerol by rumen microbes. **Animal Feed Science**. Technol. 41:121–132, 1993.
- ROONEY, L.W., PFLUGFELDER, R.L.1986. Factors affecting starch digestibility with special emphasis on shorgum and corn. J. Anim. SCI
- ROWLANDS, G.J. A review of variations in the concentrations of metabolites in the blood of beef and dairy cattle associated with physiology, nutrition and disease, with particular reference to the interpretation of results. **World Review of Nutrition and Dietics**, v. 35, p. 172-235, 1980.
- RUSSELL, J. P., O'CONNOR, C, D., FOX, D. G. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. I. Ruminant fermentation. **Journal of Animal Science**. 70: 3562-3577, 1992.

- SCHRODER, A., SUDEKUM, K. H. Glycerol as a by-product of biodiesel production in diets for ruminants. In New Horizons for an Old Crop. Proc. 10th Int. **Rapeseed Congre.**, Canberra, Australia. N. Wratten and P. A. Salisbury, ed.241: 26–29,1999.
- SHIN, J.H.; KIM, S.C.; WANG,D.; ADESOGAM,A.T.; STAPLES,C.R. Glycerol Supplementation for lactating clairy cows, **Journal of Dairy Science**, Champaign, V.92, p. 88, jan. 2009.
- SKLAN, D.; ASHKENAZI, R.; BRAUN, A. et al. Fatty acids, calcium soaps of fatty acids and cottonseeds fed to high yielding cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.2463- 2472, 1992.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Vicosa: UFV, 2002. 235p.
- STAPLES, C.; BURKE, J.M; THATCHER, W.W, Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. **Journal of Animal Science**, V.81, p.856-871, 1998.
- SUTTON, J.D. Altering milk composition by feeding. **Journal of dairy Science**, v.73, p.1343-1350, 1990.
- TEIXEIRA, J.C. Fisiologia digestive dos animais ruminantes. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1998.
- VARGAS, L. H., LANA, R. P., JHAM, G. N. et al. Adição de lipídios na ração de vacas leiteiras: parâmetros fermentativos ruminais, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, V.31, n.1, p.522-529, 2002.
- ZEOULA, M.L; MARTINS, ^aS.; ALCALDE, C.R, ET AL. Solubilidade e degradabilidade do amido diferentes alimentos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.28, n.5, p.905-912,1999.