

# Glicerina em substituição ao milho no concentrado de vacas em lactação\*

## Glycerin replacing corn in the concentrate of lactating cows

Anna Carolynne Alvim Duque,\*\* Fernando César Ferraz Lopes,\*\*\* Jackson Silva e Oliveira,\*\*\* Mirton José Frota Morenz,\*\*\* Larissa Gomes dos Reis,\*\*\*\* Juliana Sávia da Silva,\*\*\*\*\* Ana Luiza da Costa Cruz Borges,\*\*\*\*\* Ricardo Reis e Silva\*\*\*\*\*

### Resumo

Foram avaliados o consumo e a digestibilidade dos nutrientes, a produção e a composição do leite de vacas Holandês x Gir alimentadas com dietas baseadas em silagem de milho suplementada com concentrado contendo ou não glicerina obtida da produção de biodiesel. Os tratamentos basearam-se na substituição parcial do amido do milho moído pelo glicerol da glicerina. O experimento foi realizado durante 96 dias utilizando delineamento em blocos casualizados, nove vacas por tratamento e três medidas repetidas no tempo. Não houve diferença ( $P>0,05$ ) entre tratamentos para consumos de matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro e nutrientes digestíveis totais. Foram observados menores consumos de amido e extrato etéreo para as vacas que receberam concentrado com glicerina que, por sua vez, consumiram maior ( $P<0,05$ ) quantidade de glicerol. Não houve efeito ( $P>0,05$ ) da inclusão de glicerina sobre a digestibilidade dos nutrientes, produção e composição do leite, mas foi observada maior ( $P<0,05$ ) produção de leite corrigida para 4% de gordura e menor teor de nitrogênio ureico no leite das vacas que receberam concentrado sem glicerina. Em dietas de vacas Holandês x Gir a suplementação da silagem de milho com concentrado contendo níveis médios de 8,12% de glicerina em substituição ao milho moído, apresenta potencial para produção de 20 kg/dia de leite com elevado teor de sólidos.

**Palavras-chave:** energia, glicerol, milho, silagem de milho.

### Abstract

Intake, digestibility of nutrients, production and milk composition of Holstein x Gyr fed diets based on corn silage supplemented with concentrates containing glycerin or no coproduct of biodiesel production were evaluated. The treatments were based on the partial replacement of ground corn starch by the glycerol of glycerine. The experiment was conducted during 96 days using a randomized block design, nine cows per treatment and three repeated measurements over time. There was no difference ( $P>0.05$ ) between treatments regarding the dry matter, organic matter, crude protein, neutral detergent fiber and total digestible nutrients. Smaller consumption of starch and lipids were observed by cows receiving concentrated with glycerin, that, in turn, consumed higher ( $P<0.05$ ) amount of glycerol. There was no difference ( $P>0.05$ ) among treatments for nutrient digestibility, milk production and composition, but there was a higher yield of milk corrected to 4% fat and lower levels of urea nitrogen in the milk of cows fed concentrate without glycerol ( $P<0.05$ ). For Holstein x Gyr cows receiving diets based on corn silage, the supplementation with concentrate containing the average level of 8,12% of glycerine as ground corn replacer shows potential milk production of 20 kg/day with a high solid content.

**Keywords:** energy, glycerol, corn, corn silage.

### Introdução

Do ponto de vista nutricional, a glicerina tem surgido como fonte alimentar energética alternativa e promissora na produção animal, particularmente para ruminantes, pois, assemelha-se ao propilenoglicol (substância gliconeogênica), utilizado com grande eficiência na alimentação de vacas leiteiras de alta produção. De acordo com a *Food and Drug Administration* (FDA - EUA), a glicerina tem seu uso seguro e reconhecido na alimentação animal. No entanto, o teor de metanol presente na glicerina deverá ser levado em consideração, não devendo ultrapassar 150 ppm, conforme também determina a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) no Brasil, por meio da resolução 386/1999.

A inclusão de glicerina na dieta de vacas leiteiras tem sido utilizada na prevenção de distúrbios metabólicos associados ao período de transição, sendo a recomendação para esta fase de 5 a 8% na matéria seca da dieta (Donkin, 2008). De acordo com o mesmo autor, a glicerina advinda do biodiesel poderá ser considerada o “novo milho” para a alimentação de ruminantes, podendo-se incluir até 15% na matéria seca da dieta, sem interferir na ingestão de alimentos nem na produção animal.

Segundo a ANP (Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Bicomustível), a produção de biodiesel puro no Brasil foi de, aproximadamente, 52 milhões de litros em 2007. O Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel do Brasil prevê a obrigatoriedade de incluir 10% de biodiesel no diesel de petróleo

\*Recebido em 20 de julho de 2017 e aceito em 21 de novembro de 2018.

\*\*Doutoranda do Curso de Zootecnia da Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte, MG; bolsista do CNPq. E-mail: alvimduque@yahoo.com.br.

\*\*\*Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG.

\*\*\*\*Estudante do Curso de Farmácia da UFJF, Juiz de Fora, MG.

\*\*\*\*\*Departamento de Zootecnia, Escola de Veterinária, UFMG.

a partir de 2019 e, em decorrência disto, haverá aumento substancial da produção de glicerina (BRASIL, 2016). Neste sentido, o uso da glicerina como ingrediente energético na dieta de ruminantes desponta como promissora alternativa. O glicerol, principal componente da glicerina, quando incluído na dieta de vacas pode suprir a demanda energética, já que este apresenta valor de energia líquida para lactação entre 8,0 e 9,7 MJ/kg, semelhante aos 8,4 MJ/kg relatados para o milho moído (NRC, 2001). Por esta razão, a inclusão da glicerina em dietas de vacas leiteiras como substituto do milho no suplemento concentrado já vem sendo alvo de estudos (San Vito, 2010). Ressalte-se que nos trabalhos de alimentação de ruminantes realizados em outros países foram utilizadas glicerinas altamente purificadas, cenário diferente do encontrado no Brasil, onde o custo deste material inviabiliza sua utilização para animais. A glicerina produzida pelas indústrias brasileiras de biocombustível e comercializada em conformidade com os padrões de qualidade exigidos pela ANVISA pode ser considerada semipurificada e ganha destaque por apresentar preço competitivo em relação ao milho. Deste modo, fazem-se necessários estudos para recomendação de inclusão desta glicerina na alimentação de vacas em lactação.

Objetivou-se com a realização desse trabalho avaliar o consumo e a digestibilidade dos nutrientes, a produção e composição do leite de vacas Holandês x Gir alimentadas com dietas baseadas em silagem de milho suplementada com concentrados contendo ou não glicerina semipurificada, oriunda da produção de biocombustível.

## Material e métodos

O trabalho foi realizado no período de julho a novembro de 2010, no Campo Experimental José Henrique Bruschi, de propriedade da Embrapa Gado de Leite, localizado no município de Coronel Pacheco-MG. Foram utilizadas 18 vacas Holandês x Gir (H x G), múltiparas, no terço inicial de lactação ( $48 \pm 18$  dias), com produção média de  $19,8 \pm 4,9$  kg/dia de leite, e peso corporal médio de  $554 \pm 48$  kg. Os procedimentos experimentais utilizados foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMG (Protocolo CETEA nº 216/2010). Os tratamentos avaliados basearam-se na substituição parcial do amido do milho moído pelo glicerol da glicerina (Tabela 1) em dietas com silagem de milho suplementada com concentrado.

**Tabela 1:** Proporção dos ingredientes nos suplementos concentrados formulados com inclusão ou não de glicerina

Ingredientes (% da matéria seca)	Tratamentos	
	Sem glicerina	Com glicerina
Farelo de soja	44,9	49,9
Milho moído	35,1	8,3
Glicerina	0,0	22,1
Farelo de trigo	14,0	13,9
Top Milk Núcleo <sup>®</sup> , 1	4,1	4,0
Calcário	0,7	0,7
Sal branco	1,1	1,1

<sup>1</sup>Níveis de garantia por quilograma de produto: Ca = 255 a 268 g; P = 76 g; S = 20 g; Mg = 30 g; Co = 60 mg; Cu = 850 mg; I = 65 mg; Mn = 2.000 mg; Se = 20 mg; Zn = 6.000 mg; Fe = 1.000 mg; F = 760 mg; Vitamina A = 220.000 UI; Vitamina E = 500 UI.

Foi utilizado delineamento de blocos ao acaso, com 9 vacas por tratamento, e três medidas repetidas no tempo. As vacas foram distribuídas nos blocos com base na produção de leite e peso corpóreo observados em período pré-experimental, na ordem de parição e no grau de sangue, que variou de 1/2 a 7/8 H x G. O período experimental total foi de 96 dias, sendo os três períodos de coletas, com duração de 9 dias, realizados do 24<sup>o</sup> ao 32<sup>o</sup> dia, do 56<sup>o</sup> ao 64<sup>o</sup> dia e do 88<sup>o</sup> ao 96<sup>o</sup> dia.

As dietas experimentais (Tabela 2) foram formuladas para serem isoenergéticas e isoproteicas, por meio do *software* Spartan (*Michigan State University*, EUA) com objetivo de atender às exigências estabelecidas pelo NRC (2001) para vaca de 550 kg de peso corpóreo, com 100 dias em lactação, produzindo 20 kg/dia de leite com 3,5% de gordura, sem alteração do peso corporal.

**Tabela 2:** Composição química das dietas (% da matéria seca), formuladas utilizando o programa *Spartan* (*Michigan State University*)

Composição química	Dieta	
	Sem glicerina	Com glicerina
Matéria seca (%)	42,0	42,1
Proteína bruta	15,2	15,2
Fibra em detergente neutro	39,1	38,3
Fibra em detergente ácido	24,1	23,9
Glicerina	0,0	8,9
Glicerol	0,0	7,2
Cálcio	0,7	0,7
Fósforo	0,5	0,5

As vacas permaneceram em curral do tipo *free-stall*, com disponibilidade de água e mistura mineral. As dietas foram fornecidas *ad libitum* (10% de sobras), uma vez ao dia, logo após a ordenha da manhã, e preparadas na forma de mistura completa em vagão misturador DATARANGER<sup>®</sup> (*American Calan Inc.*, Northwood, EUA). Durante todo o período experimental, no início de cada semana, amostras da silagem de milho a ser fornecida foram coletadas e seu teor de MS determinado com auxílio de forno micro-ondas (Modelo MM7809, Panasonic, Belo Horizonte, MG), visando ajustar a relação volumoso:concentrado (V:C) das duas dietas para 60:40 (base na matéria seca - MS).

Os preparos dos concentrados foram realizados a cada 10 dias, visando precaver qualquer eventual alteração na sua composição química como resultado dos efeitos de tempo e fatores ambientais. A glicerina utilizada apresentou 80,2% de glicerol e 200 ppm de metanol, sendo obtida a partir de biodiesel produzido de óleo de soja (ADM - *Archer Daniels Midland Company Ltda.*, Rondonópolis, MT).

Os consumos individuais foram determinados por diferença entre as quantidades oferecidas das dietas e respectivas sobras, utilizando cochos com portões eletrônicos do tipo *calan-gates* (*American Calan Inc.*, Northwood, EUA). Amostras da silagem de milho, dos suplementos concentrados e das respectivas sobras individuais foram armazenadas (-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 isto, 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, cinzas, matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), conforme metodologia descrita por Silva e Queiroz (2006). Nestas amostras também foi determinada a digestibilidade *in vitro* da MS (Silva e Queiroz, 2006) e analisados os teores de glicerol (Moreira *et al.*, 2011) e de amido, este último calculado multiplicando-se por 0,9 a concentração de glicose, determinada pelo método enzimático da glicose oxidase (*kit* PAP - ref. 84, LabTest®, Diagnóstico S/A, Lagoa Santa, MG), após hidrólise ácida das amostras (Passos, 1996). Os teores de nutrientes digestíveis totais (NDT) dos alimentos e das dietas foram estimados (Weiss *et al.*, 1992) por  $NDT = 0,98*(100-FDN_{cp}-PB-Cinzas-EE) + EXP(-0,012*NIDA)*PB + 2,25*(EE-1) + 0,75*(FDN-LIG)*[1-(LIG/FDN)^{0,667}]-7$ , e os teores de carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados conforme proposto por Sniffen *et al.* (1992).

Os resultados das análises laboratoriais e os valores dos pesos diários das dietas fornecidas e sobras individuais, durante cada um dos três períodos de coleta foram utilizados para os cálculos dos consumos de MS, MO e demais nutrientes. No segundo período de coletas, a digestibilidade aparente (DA) da MS (DMS) foi calculada como:  $DMS (\%) = [(MS \text{ ingerida} - MS \text{ excretada}) / (MS \text{ ingerida})] * 100$ . Para MO, PB e FDN foi utilizada a equação:  $DA (\%) = \{[(MS \text{ ingerida} * \% \text{ do nutriente}) - (MS \text{ excretada} * \% \text{ do nutriente})] / (MS \text{ ingerida} * \% \text{ do nutriente})\} * 100$  (Berchielli *et al.*, 2011).

A produção fecal foi estimada utilizando o indicador externo óxido crômico (Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) embalado em “papel-toalha”, administrado às vacas por via oral durante 12 dias, sempre após as ordenhas, na quantidade de 10 g/vaca/dia, divididos em partes iguais. Nos seis últimos dias de administração do Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> foram realizadas coletas de fezes diretamente na ampola retal das vacas, realizadas em intervalos de 26 h a partir das 8:00 h do primeiro dia de coletas, sendo armazenadas (-10°C) e, posteriormente, descongeladas, pré-secadas em estufa de ventilação forçada de ar (55°C, 72 h), compostas (com base na MS) por vaca, moídas (1 mm), e analisadas quanto ao teor de cromo por espectrofotometria de absorção atômica (Williams *et al.*, 1962).

Em cada período de coletas foram registradas as produções de leite nas ordenhas da manhã (07:00 h) e da tarde (14:00 h), sendo coletadas em frascos com conservante bronopol amostras representativas da produção individual diária de leite (alíquotas de 2/3 e 1/3, respectivamente nas ordenhas da manhã e da tarde), que foram encaminhadas ao Laboratório de Qualidade do Leite da Embrapa Gado de Leite (Juiz de Fora, MG), sendo analisadas em equipamento Bentley® 2000 (*Bentley Instruments Inc.*, Chaska, EUA) quanto aos teores de gordura, lactose, proteína, extrato seco total e desengordurado, segundo procedimentos da Oficial. (2016). Uma segunda amostragem individual de leite foi realizada, porém em frascos sem conservante, destinada à análise do teor de ureia, empregando-se o método enzimático-colorimétrico (urease), 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. A produção de leite corrigida para 4% de gordura (PLCG) foi calculada pela equação (NRC, 2001):  $PLCG = (0,4 * \text{produção de leite}) + 15 * (\text{teor de gordura do leite} / 100) * \text{produção de leite}$ .

A análise de variância dos dados de digestibilidade aparente foi realizada utilizando o procedimento GLM do pacote estatístico SAS versão 9.0, considerando os efeitos de bloco e tratamento. Para comparação das médias ( $\alpha = 0,05$ ) utilizou-se o teste F. As variáveis referentes ao consumo de nutrientes, produção e composição de leite foram analisadas como medidas repetidas no tempo, utilizando-se o procedimento MIXED do pacote estatístico SAS versão 9.0. A escolha da matriz de covariância foi realizada com base no Critério de Informação de Akaike (Wolfinger, 1993), adotando-se as seguintes fontes de variação: nível de glicerina, período de coleta e a interação destes fatores. Os níveis de glicerina e os períodos de coleta, bem como a interação entre eles, foram considerados efeitos fixos, e os blocos e suas interações considerados efeitos aleatórios. As médias foram estudadas utilizando-se os testes F e de *Tukey* para os fatores nível de glicerina e período de coleta, respectivamente ( $\alpha = 0,05$ ).

## Resultados e discussão

A composição química da silagem de milho oferecida variou ao longo dos períodos experimentais (Tab. 3). Ressalta-se que somente no primeiro período, o teor de MS foi semelhante ao preconizado na formulação das dietas apresentadas na Tab. 2, bem como ao valor médio de 31,59% relatado na literatura (Valadares Filho *et al.*, 2010). Isto pode ser parcialmente atribuído ao fato de que a silagem de milho fornecida às vacas foi obtida de silo aéreo de elevada capacidade de armazenamento, que era também utilizado para a alimentação de grande número de animais do campo experimental. Isto pode ter sido a principal causa da grande variação observada não só no teor de MS, mas na composição química da silagem de milho dos três períodos experimentais (Tabela 3).

**Tabela 3:** Composição química das silagens de milho em função do período experimental

Composição química (% da matéria seca, MS)	Período		
	1	2	3
MS (%)	33,46	23,84	22,44
Matéria orgânica	95,33	93,78	92,13
Proteína bruta	6,14	9,49	9,42
Fibra em detergente neutro	41,26	53,30	53,69
Fibra em detergente ácido	24,17	34,49	32,26
Amido	32,67	19,09	17,84
Digestibilidade <i>in vitro</i> da MS (%)	64,96	63,33	64,01
Glicerol	1,99	0,90	0,79
Extrato etéreo	4,64	4,27	3,33
Carboidratos não fibrosos	44,54	28,85	27,82
Nutrientes digestíveis totais (%)	69,02	61,61	57,07

Ademais, durante todo o período experimental, no início de cada semana, houve a preocupação em amostrar a silagem de milho a ser fornecida para as vacas, visando ajustar a relação V:C. No entanto, esta periodicidade parece não ter sido suficiente para o ajuste da relação V:C, conforme preconizada na formulação das dietas. Ao longo do período experimental foram observados menores teores de MS no suplemento concentrado com inclusão de glicerina quando comparado àquele utilizado na dieta controle (Tabela 4). A redução encontrada pode ser parcialmente atribuída à característica higroscópica da glicerina, já que a mesma apresentava teor de MS semelhante ao milho moído, ingrediente este que foi substituído por ela. A despeito da preocupação com os preparos dos concentrados, realizados a cada 10 dias, visando precaver alguma eventual alteração na sua composição química como resultado dos efeitos de tempo e fatores ambientais, não foi prevista esta característica umectante da glicerina.

Conforme observado na Tabela 3, os teores de glicerol nas dietas com inclusão de glicerina variaram de 5,7 a 7,7% da MS, com valor médio de 6,5% da MS, inferior aos 7,2% da MS preconizados na formulação da dieta (Tabela. 2). Novamente, isto pode ser parcialmente atribuído à variação nos teores de MS do suplemento concentrado contendo glicerina, principalmente, nos períodos 2 e 3 (Tabela 4).

Os consumos de MS, MO e FDN, expressos em kg/vaca/dia e em %PV; e os de PB, FDN, FDA, NDT, CHOT e CNF, expressos em kg/vaca/dia, não foram influenciados ( $P>0,05$ ) pela inclusão de glicerina na dieta (Tabela 5). Para nenhuma destas variáveis houve efeito da interação tratamento x período ( $P>0,05$ ).

San Vito (2010) avaliou dietas baseadas em silagem de milho (relação V:C de 50:50, base MS) com inclusão (7% da MS) ou não de glicerina em substituição ao milho moído, fornecidas a vacas Holandês com 600 kg de peso corporal e produzindo, em média, 30 kg/dia de leite. Os consumos de MS e FDN apresentados por este autor foram, de modo geral, superiores aos observados nesta pesquisa, sendo, respectivamente, de 3,66 e 3,48%PV, e de 1,40 e 1,26%PV, para os tratamentos sem ou com inclusão de glicerina na MS da dieta.

Leite *et al.* (2006) trabalhando com vacas Holandêsas, com peso corporal de 550 kg e produção média de 25 kg/dia de leite, recebendo dieta à base de silagem de milho e concentrado (relação V:C de 56:44, base MS), encontraram valores para CMS, CMO, CPB, CFDN, CFDA, CEE e CNDT, respectivamente, de 21,62; 20,28; 3,54; 9,92; 5,62; 0,64 e 14,74 kg/vaca/dia, ou seja, também superiores aos observados na Tabela 5.

Os baixos consumos de MS das duas dietas, quando comparados com os observados por San Vito (2010) e Leite *et al.* (2006), associados às respectivas baixas concentrações de NDT (Tabela 6) explicam, parcialmente, os menores consumos de NDT observados no presente estudo. Estas baixas concentrações de NDT nas dietas podem também ser atribuídas aos teores de amido nas silagens de milho, principalmente, naquelas utilizadas na segunda e terceira fases do experimento, já que na primeira fase o teor médio foi de 32,7% da MS (Tabela 3). Nas silagens das duas últimas fases, os teores de amido variaram de 17,8 a

**Tabela 4:** Composição química dos suplementos concentrados oferecidos ao longo do período experimental

Composição química (% da matéria seca, MS)	Concentrado/Período					
	Sem glicerina			Com glicerina		
	1	2	3	1	2	3
MS (%)	81,43	80,64	79,27	75,83	68,60	68,88
Matéria orgânica	89,70	88,46	90,33	88,14	88,46	89,12
Proteína bruta	31,05	21,37	27,11	28,58	29,04	32,16
Fibra em detergente neutro	18,40	18,75	21,25	15,70	19,79	21,25
Fibra em detergente ácido	6,39	6,84	7,85	5,85	7,42	7,64
Amido	31,80	32,60	28,40	14,10	12,70	14,20
Digestibilidade <i>in vitro</i> da MS (%)	85,31	84,66	83,92	86,69	86,26	87,64
Glicerol	0,52	0,58	0,49	17,13	15,11	15,37
Extrato etéreo	2,86	3,32	2,23	1,74	1,80	0,87
Carboidratos não fibrosos	39,39	47,77	42,24	44,62	45,33	41,03
Nutrientes digestíveis totais (%)	41,98	51,53	44,10	43,98	37,68	34,33

**Tabela 5:** Consumos diários de matéria seca (CMS), matéria orgânica (CMO), proteína bruta (CPB), fibra em detergente neutro (CFDN), fibra em detergente ácido (CFDA), amido (CAMIDO), extrato etéreo (CEE), nutrientes digestíveis totais (CDNT) e de carboidratos não fibrosos (CCNF) de dietas baseadas em silagem de milho suplementada com concentrado contendo ou não glicerina, fornecidas a vacas Holandês x Gir em lactação

Consumo	Dieta		Erro padrão da média
	Sem glicerina	Com glicerina	
kg/vaca/dia			
CMS	16,76	17,17	0,6067
CMO	15,45	15,79	0,5592
CPB	2,53	2,77	0,0936
CFDN	6,19	6,36	0,2470
CFDA	3,59	3,72	0,1392
CAMIDO	4,48 a	3,45 b	0,1633
CEE	0,65 a	0,58 b	0,0193
CNDT	11,27	11,47	0,4022
CCNF	6,40	6,59	0,2175
% do peso corporal			
CMS	3,05	2,92	0,1292
CMO	2,81	2,68	0,1188
CFDN	1,13	1,08	0,0507

Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem entre si pelo teste F ( $P<0,05$ )

19,1% da MS (Tabela 3), valores estes inferiores ao compilado por Valadares Filho *et al.* (2010), de 24,01% da MS.

foi observada interação ( $P < 0,05$ ) entre tratamento x período. Isto pode ser parcialmente atribuído às diferenças observadas nos

**Tabela 6:** Composição química das dietas com ou sem inclusão de glicerina, utilizadas nos três períodos experimentais, na base da matéria seca (MS)

Composição química (% da MS)	Dietas/Período					
	Sem glicerina			Com glicerina		
	1	2	3	1	2	3
MS (%)	42,78	31,94	30,54	42,48	30,64	29,63
Matéria orgânica	93,25	91,86	91,46	93,25	91,97	91,05
Proteína bruta	15,36	13,77	15,97	14,67	16,14	17,61
Amido	32,35	23,96	21,75	25,61	16,92	16,53
Digestibilidade <i>in vitro</i> da MS (%)	72,49	71,01	71,38	73,22	71,13	72,52
Glicerol	1,45	0,78	0,68	7,74	5,73	6,04
Extrato etéreo	3,98	3,93	2,92	3,54	3,43	2,44
Carboidratos não fibrosos	42,63	35,66	33,15	45,22	34,45	32,57
Nutrientes digestíveis totais (%)	59,64	58,89	53,05	61,06	55,64	50,87

O baixo consumo de MS encontrado nesse experimento pode ser ainda parcialmente atribuído à resposta metabólica decorrente do aumento da produção e absorção de propionato produzido durante a fermentação do amido e/ou do glicerol (Lee *et al.*, 2011). Estudos indicam que o aumento da produção e absorção de propionato no rúmen pode estar relacionado à redução da ingestão de MS nos ruminantes (Allen e Bradford, 2009). Todavia, esse baixo consumo não foi verificado por Donkin e Doane (2007), quando o glicerol foi incluído em substituição ao milho moído em dietas de vacas em lactação nos níveis de 3,6% e 15% da MS.

Diferenças na ingestão de MS relatadas na literatura podem ser causadas pela composição da glicerina, que varia de acordo com o método de obtenção, e também por fatores intrínsecos ao glicerol no metabolismo do animal (Fávaro, 2010). Ademais, variações nas concentrações de água, metanol, fósforo e potássio, podem ser limitantes para inclusão da glicerina na alimentação animal, além de também poder influenciar na palatabilidade da glicerina obtida, bem como na sua aceitabilidade (Chung *et al.*, 2007).

Os valores observados para o CPB (Tabela 5) foram semelhantes entre os dois tratamentos ( $P > 0,05$ ). Isto pode ser considerado reflexo de que as dietas oferecidas foram isoproteicas, conforme se previa inicialmente. Todavia, o teor de PB observado para o concentrado sem inclusão de glicerina no segundo período de avaliação foi bem abaixo dos demais (Tabela 4). Tal análise foi repetida e os resultados confirmados. Sendo assim, isto pode ser parcialmente atribuído a algum problema de amostragem.

Para o consumo de EE foi observada diferença ( $P < 0,05$ ) entre tratamentos, com o menor valor associado à dieta com inclusão de glicerina. Isto é coerente com a composição das duas dietas, haja vista a substituição de uma fonte contendo 4,0% de EE (milho moído) por outra contendo apenas 0,3% (glicerina). Da mesma forma, a substituição do milho moído na dieta controle por glicerina provocou diferença ( $P < 0,05$ ) tanto no consumo de amido (Tabela 5) quanto de glicerol (Tabela 7). Novamente, isto foi decorrente das composições destas substâncias no milho moído e na glicerina. Ressalte-se, que no caso do consumo de glicerol,

teores de MS da silagem de milho (Tabela 3) e do suplemento concentrado com glicerina (Tabela 4), que dificultou o alcance da relação V:C originalmente planejada (60:40).

**Tabela 7:** Consumo diário de glicerol de dietas baseadas em silagem de milho suplementada com concentrado contendo ou não glicerina, fornecidas a vacas Holandês x Gir em lactação

Período	Dieta		Erro padrão da média
	Sem glicerina	Com glicerina	
1	268,14 Ab	1.454,63 Aa	40,0268
2	131,04 Bb	984,28 Ba	20,7154
3	95,27 Bb	901,14 Ca	25,3617

Médias seguidas por letras diferentes maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas diferem entre si ( $P < 0,05$ )

Não houve efeito ( $P > 0,05$ ) da inclusão da glicerina na dieta sobre os coeficientes de digestibilidade aparente da MS, MO, FDN, e PB (Tabela 8). Pires *et al.* (2008) utilizando vacas Holandês com 526 kg de peso corporal, 85 dias de lactação, e produzindo 16 kg/dia de leite, numa dieta com silagem de milho e concentrado na proporção 50:50, encontraram CMS de 14,86 kg/dia, e coeficientes de DMS (66,6%), DMO (67,0%), DFDN (47,4%) e DPB (74,2%), acima dos obtidos no presente trabalho (Tabela 8).

**Tabela 8:** Digestibilidades aparentes (%) da matéria seca (DMS), matéria orgânica (DMO), fibra em detergente neutro (DFDN) e proteína bruta (DPB) de dietas baseadas em silagem de milho suplementada com concentrado contendo ou não glicerina, fornecidas a vacas Holandês x Gir em lactação

Digestibilidade aparente (%)	Dieta		Coeficiente de variação (%)
	Sem glicerina	Com glicerina	
DMS	60,95	61,59	11,32
DMO	63,45	64,91	10,03
DFDN	38,71	39,58	29,74
DPB	61,65	66,17	9,39

San Vito (2010) avaliou dietas baseadas em silagem de milho (relação V:C de 50:50, base MS) com inclusão (7% da MS) ou não de glicerina em substituição ao milho moído, fornecidas a vacas Holandês com 600 kg de peso corporal e produzindo, em média, 30 kg/dia de leite. Os coeficientes de digestibilidade da MS, MO e PB apresentados por este autor foram, de modo geral, semelhantes aos do presente estudo (Tabela 8), sendo, respectivamente, de 61,0%, 62,4% e 65,9%; e de 62,0%, 63,4% e 65,8%, para os tratamentos sem ou com inclusão de glicerina na MS da dieta, respectivamente.

Houve efeito ( $P < 0,05$ ) da inclusão de glicerina na dieta apenas sobre a PLCG e para o teor de NUL (Tabela 9). Não houve efeito ( $P > 0,05$ ) da interação tratamento x período para nenhuma das variáveis de produção e composição do leite.

( $P > 0,05$ ). No entanto, o concentrado com inclusão de glicerina apresentou em sua composição, maior teor de farelo de soja e menor de milho moído, cujas degradabilidades ruminais são, respectivamente, de 75,92% e 92,08% (Valadares Filho *et al.*, 2010). Ou seja, espera-se maior degradabilidade ruminal da PB da dieta com glicerina. Pela ação da microbiota e desde que haja disponibilidade de energia no rúmen, parte da proteína degradável no rúmen será transformada em proteína microbiana, e juntamente com a proteína dietética que escapou da degradação ruminal, irá fornecer à glândula mamária os aminoácidos que serão metabolizados para a síntese da proteína do leite, bem como utilizados para a formação de tecido corporal. Na ausência de fonte de energia com degradabilidade ruminal similar à da PB ingerida, a amônia em excesso no rúmen, será

**Tabela 9:** Produção e composição do leite de vacas Holandês x Gir alimentadas com dietas baseadas em silagem de milho suplementada com concentrado contendo ou não glicerina

Variável	Dieta		Erro padrão da média
	Sem glicerina	Com glicerina	
Produção de leite (PL, kg/vaca/dia)	22,95	20,11	1,02
PL corrigida para 4% de gordura (kg/vaca/dia)	23,16 a	20,39 b	0,91
Teor de gordura (%)	4,17	4,08	0,14
Teor de proteína (%)	3,35	3,43	0,07
Teor de lactose (%)	4,56	4,43	0,07
Teor de extrato seco total (%)	13,06	12,90	0,20
Teor de extrato seco desengordurado (%)	8,89	8,82	0,08
Nitrogênio ureico (mg/dL)	19,38 b	21,47 a	0,56

Médias seguidas por letras diferentes diferem entre si ( $P < 0,05$ ) pelo teste F.

Zacaroni (2010) avaliou a produção e composição do leite de vacas Holandês recebendo silagem de milho suplementada ou não com mistura isoproteica de glicerina (76,2% de glicerol e 8.800 ppm de metanol na matéria natural) e farelo de soja, em substituição ao milho finamente moído. A substituição do amido do milho por glicerina deprimiu ( $P < 0,05$ ) a produção de leite de 23,4 para 21,3 kg/dia, sem afetar o CMS ( $P > 0,05$ ). As respostas observadas no presente trabalho se assemelham às dos trabalhos citados anteriormente, onde a ausência de efeito da inclusão de glicerina sobre a produção e composição do leite (Tabela 9) pode ser parcialmente explicada pelos consumos semelhantes ( $P > 0,05$ ) de MS, PB, NDT e CNF das dietas (Tabela 5). Por outro lado, respostas diferentes para produção de leite foram encontradas em estudos com vacas recebendo dietas onde concentrados energéticos foram substituídos por glicerol (Chung *et al.*, 2007).

As concentrações de NUL foram diferentes ( $P < 0,05$ ) entre tratamentos (Tabela 9). Os valores de NUL normalmente variam entre 12 e 18 mg/dL e teores acima disto podem estar relacionados com efeitos negativos sobre a fertilidade das vacas, já que o NUL reflete o metabolismo do nitrogênio, e seu aumento pode estar associado ao excesso, bem como à qualidade da PB e/ou ao déficit de energia na dieta (Peres, 2001). Os CPB entre as duas dietas foram semelhantes

transportada para a corrente sanguínea e metabolizada em ureia no fígado que, posteriormente, retornará para a corrente sanguínea, onde poderá entrar no rúmen por difusão ou via saliva, ou ainda ser excretada na urina e leite (Peres, 2001). Não houve efeito da inclusão de glicerina sobre os consumos de NDT e CNF, porém o consumo de amido foi maior na dieta sem glicerina. É possível que a maior degradabilidade ruminal da PB da dieta com glicerina, associado ao menor aporte de CNF sob a forma de amido possa ter provocado maior drenagem de amônia do rúmen para o fígado e, por conseguinte, maior concentração de NUL no leite das vacas que consumiram a dieta com glicerina. Esta maior secreção de NUL no leite das vacas que consumiram glicerina pode ser ainda relacionada à menor PLCG observada neste tratamento, já que a energia dispensada para o metabolismo da ureia no fígado não foi utilizada para produção de leite (Peres, 2001).

## Conclusões

Em dietas de vacas Holandês x Gir a suplementação da silagem de milho com níveis médios de 8,12% de glicerina na dieta em substituição ao milho moído, apresenta potencial para produção de 20 kg/dia de leite com elevado teor de sólidos.

## Referências

- ALLEN, M.S.; BRADFORD, B.J. Metabolic regulation of feed intake in cattle: a conceptual model. *J. Anim. Sci.*, v.87, p.3317-3334, 2009.
- 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. (Ed.). *Nutrição de ruminantes*. 2ed. Jaboticabal: Funep, 2011, p.415-438.
- BRASIL. Lei Nº 13.263, de 23 de Março de 2016. Altera a Lei nº 13.033, de 24 de setembro de 2014, para dispor sobre os percentuais de adição de biodiesel ao óleo diesel comercializado no território nacional. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 24 Mar. 2016. Seção 1, p.1.
- CHUNG, Y.H.; RICO, D.E.; MARTINEZ, C.M. *et al.* Effects of feeding dry glycerin to early postpartum Holstein dairy cows on lactational performance and metabolic profiles. *J. Anim. Sci.*, v.90, p.5682-5691, 2007.
- DONKIN, S.S.; DOANE, P. Glycerol as a feed ingredient in dairy rations. In: THREE-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE, 2007, Fort Wayne. *Proceedings...* Fort Wayne: The Ohio State University, Michigan State University, Purdue University, p.97-103, 2007.
- FÁVARO, V.R. *Utilização de glicerina, subproduto do biodiesel, na alimentação de bovinos*. 2010. 59f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal.
- LEE, S.-Y.; LEE S.-M.; CHO, Y.-B.; KAM, D.-K.; LEE, S.-C.; KIM, C.-H.; SEO.S. Glycerol as a feed supplement for ruminants: in vitro fermentation characteristics and methane production. *Animal Feed Science and Technology*, Amsterdam, v.166-167, p.269-274, 2011.
- LEITE, L.A.; SILVA, B.O.; REIS, R.B *et al.* Silagens de girassol e de milho em dietas de vacas leiteiras: consumo e digestibilidade aparente. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.58, p.1192-1198, 2006.
- MOREIRA, E.A.; REIS, L.G.; ALEVATO, C.B. *et al.* Método de extração do glicerol livre por saponificação em alimentos para ruminantes. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DO LEITE, 10, 2011. Maceió. *Anais...* Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2011.
- NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. *Nutrient requirements of dairy cattle*. 7. ed. Washington: National Academic Press. 2001. 381 p.
- OFFICIAL *Methods of analysis*. 20 ed., Arlington: AOAC, 2016. 3172p.
- PASSOS, L.P. *Métodos analíticos laboratoriais em fisiologia vegetal*. Coronel Pacheco: Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite, 1996. 223p.
- PERES, J.R. O leite como ferramenta do monitoramento nutricional. In: GONZÁLEZ, F.H.D; DÜRR, J.W.; FONTANELI, R.S. (Ed.). *Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras*. Porto Alegre: UFRGS, 2001. p.30-45.
- PIRES, A.V.; SUSIN, I.; SIMAS, J.M.C. *et al.* Substituição de silagem de milho por cana-de-açúcar e caroço de algodão nos parâmetros ruminais, síntese de proteína microbiana e utilização dos nutrientes em vacas lactantes. *Ciênc. Anim. Bras.*, v.9, p.50-58, 2008.
- SAN VITO, E. *Glicerina bruta na alimentação de vacas leiteiras*. 2010. 40f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, J.S. *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*. 3. ed. Viçosa: Imprensa Universitária, 2006. 235p.
- SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. *et al.* A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *J. Anim. Sc.*, v.70, p.3562-3577, 1992.
- VALADARES FILHO, S.C.; MACHADO, P.A.S.; CHIZZOTTI, M.L. *et al.* *Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos*. 3 ed. Viçosa: UFV/DZO, 2010. 502f.
- WEISS, W.P.; CONRAD, H.R.; PIERRE, N.R.S. A theoretically-based model for predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v.39, p.95-110, 1992.
- WILLIAMS, C. H.; DAVID, D. J.; IISMAA, O. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. *J. Agri. Sci.*, v.59, p.381-385, 1962.
- WOLFINGER, R.D. Covariance structure selection in general mixed models. *Communications in Statistics Simulation and Computation*, v.22, p.1079-1106, 1993. ZACARONI, O.F. *Resposta de vacas leiteiras à substituição de milho por glicerina bruta*. 2010. 43f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.