

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ

CARLOS ALBERTO ALVES DE OLIVEIRA FILHO

**GLICERINA BRUTA EM VOLUMOSOS TROPICAIS NA ALIMENTAÇÃO
DE RUMINANTES**

**ILHÉUS - BAHIA
2012**

CARLOS ALBERTO ALVES DE OLIVEIRA FILHO

**GLICERINA BRUTA EM VOLUMOSOS TROPICAIS NA ALIMENTAÇÃO
DE RUMINANTES**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de
Santa Cruz, como parte das exigências para
obtenção do título de Mestre em Ciência Animal

Área de concentração: Nutrição de ruminantes

Orientador: Prof. Dsc. José Augusto Gomes
Azevêdo

**ILHÉUS - BAHIA
2012**

O48

Oliveira Filho, Carlos Alberto Alves de.

Glicerina bruta em volumosos tropicais na alimentação de ruminantes / Carlos Alberto Alves de Oliveira Filho. – Ilhéus, BA: UESC, 2012.
viii,68 f. : il.

Orientador: José Augusto Gomes Azevêdo.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Santa Cruz. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal.

Inclui referências.

1. Ruminantes – Alimentação e rações. 2. Nutrição animal. 3. Silagem. 4. Glicerina. I. Título.

CDD 636.085



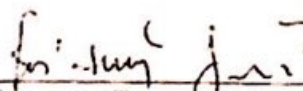
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ - UESC
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO - PROPP
SECRETARIA GERAL DE CURSOS - SECREGE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

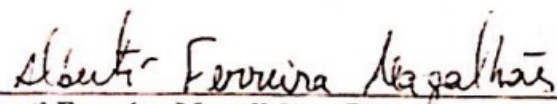
ATA DE DEFESA PÚBLICA Nº 045

DISSERTAÇÃO DE CARLOS ALBERTO ALVES DE OLIVEIRA FILHO
 NO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL *stricto sensu* - ÁREA
 DE CONCENTRAÇÃO: CIÊNCIA ANIMAL - NÍVEL: MESTRADO ACADÊMICO

Aos vinte de dezembro de dois mil e doze, às oito horas, reuniu-se na sala de aula do PPGCA no Hospital Veterinário na Universidade Estadual de Santa Cruz, a Comissão Examinadora, composta pelos Doutores Gleidson Giordano Pinto de Carvalho e **Alberti Ferreira Magalhães**, examinadores, e por mim **José Augusto Gomes de Azevêdo**, orientador, para julgar o trabalho intitulado: "GLICERINA BRUTA EM VOLUMOSOS TROPICAIS NA ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES", de autoria de **Carlos Alberto Alves de Oliveira Filho**. Após arguição e discussão, a banca examinou, analisou e avaliou o referido trabalho, chegando à conclusão que este está aprovado. Nada mais havendo a ser tratado, esta Comissão Examinadora encerrou a reunião da qual eu, Presidente desta Banca, lavrei a presente ATA que, após lida e aprovada vai assinada pelos seus membros.

Campus Prof. Soane Nazaré de Andrade, Ilhéus, Bahia, 20 de dezembro de 2012.


 José Augusto Gomes de Azevêdo - Dsc.
 UESC/DCAA
 (Orientador)


 Alberti Ferreira Magalhães - Dsc.
 CEPLAC/CEPEC
 Examinador


 Gleidson Giordano Pinto de Carvalho - Dsc
 UFBA/BA
 Examinador

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ - UESC

Campus Prof. Soane Nazaré de Andrade, Km 16 - Rodovia Jorge Amado
 Tel.: (073) 3680-5406 - FAX: (073) 3680-5406
 CEP: 45662-000 - Ilhéus-Bahia-Brasil
 e-mail: epgcanimal@uesc.br

DEDICATÓRIA

À minha companheira, Camilla, pelo amor, dedicação e paciência.

Aos meus pais, pelo amor, amizade e apoio.

À minha tia, Eunice, pelo amor, dedicação e apoio.

*À minha avó, "Emita" (in memoriam), pelo seu cuidado, dedicação e amor, minhas
eternas saudades!*

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), pela oportunidade de realização deste curso e espaço concedido.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela concessão da bolsa no transcorrer do curso.

Ao Prof. Dsc. José Augusto, pelos valiosos ensinamentos, pela boa orientação, amizade e disponibilidade em ajudar.

À Profª. Ms. Camilla Portela Gomes da Silva, pela coorientação competente.

À Dani (Creonilda), pela amizade.

Aos colegas de trabalho, Jacilene Dias dos Santos (Jaci), Valclei Luz de Abreu (Val), Leandro Silva Nascimento (Leo) e Jorge Albert (Jorge) que ajudaram durante esta caminhada.

Aos colegas do LPNAR-UESC/BA, Diego, Rebeca, Priscila, Laysa e Lígia, pela ajuda na condução das análises.

À todos que contribuíram direta e indiretamente para realização deste trabalho.

GLICERINA BRUTA EM VOLUMOSOS TROPICAIS NA ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES

RESUMO

Objetivou-se avaliar os níveis de glicerina bruta (GB) associados com a silagem de cana-de-açúcar e de sorgo sobre a cinética da fermentação e degradação, consumo de matéria seca (CMS) e compostos nutricionais, digestibilidade aparente da matéria seca (DMS) e compostos nutricionais e balanço de compostos nitrogenados em cordeiros. O trabalho foi dividido em dois experimentos: No primeiro, avaliou-se os níveis de glicerina bruta (GB) 0, 20, 40, 60 e 80 g/kg de matéria seca (MS) de silagem de cana-de-açúcar sobre a cinética da fermentação, os níveis 0, 30, 60 e 90 g/kg de MS de silagem de cana-de-açúcar sobre a cinética de degradação da fibra detergente neutro (FDN) e os níveis 0, 28, 55, 82 e 108 g/kg de MS de silagem de cana-de-açúcar sobre o consumo e digestibilidade da MS e compostos nutricionais e balanço de compostos nitrogenados em cordeiros. Os parâmetros cinéticos da fermentação não foram afetados pela inclusão de GB. A inclusão de GB afetou significativamente a fração potencialmente degradável da FDN (A), fração insolúvel potencialmente degradável da FDN (B) e a fração indegradável (I), sendo estimados aumento de 0,526% na degradação da fração A e decréscimos de 1,171 e 0,526% na degradação para cada 10g de GB incluída respectivamente, para as frações B e I. Não houve efeito significativo da inclusão de GB sobre o consumo e digestibilidade da MS e compostos nutricionais e balanço dos compostos nitrogenados. A utilização de GB em até 108 g/kg MS de silagem de cana-de-açúcar pode ser fonte alternativa de energia para cordeiros. No segundo experimento, objetivou-se avaliar os níveis de GB 0, 20, 40, 60 e 80 g/kg de matéria seca (MS) de silagem de sorgo sobre a cinética da fermentação, os níveis 0, 30, 60 e 90 g/kg de MS de silagem de sorgo sobre a cinética de degradação, e os níveis 0, 17, 33, 55 e 70 g /kg de MS de silagem de sorgo sobre o consumo e digestibilidade de MS e compostos nutricionais e balanço de compostos nitrogenados em cordeiros. Os parâmetros cinéticos da fermentação, V_{cnf} , K_{dcnf} e L foram significativamente afetados pela inclusão de GB. Os dois primeiros parâmetros apresentaram comportamento quadrático, sendo estimado V_{cnf} máximo (126,62 mL/g de MS) para inclusão de 54,85 g de GB/kg MS e K_{dcnf} mínima (0,0782/h) para inclusão de 58,75 g GB/kg de MS. Para o L houve um decréscimo linear de 0,013 h para cada 10g de GB/kg de MS. Houve redução linear de 0,996% na degradação para fração B a cada 10 g de GB/kg MS. Não houve efeito significativo da inclusão de GB sobre o consumo e digestibilidade da MS e compostos nutricionais e balanço dos compostos nitrogenados. A utilização de GB entre 50 e 70 g/kg de MS em dietas a base de silagem de sorgo pode ser fonte alternativa de energia para cordeiros.

Palavras-chave: alimento alternativo. coproduto. glicerol. valor nutricional. volumoso

GROSS GLYCERINE IN TROPICAL FORAGES IN THE FEEDING OF RUMINANTS

ABSTRACT

This study aimed to assess the levels of crude glycerin (CG) associated with silage cane sugar and sorghum on the fermentation kinetics and degradation, dry matter intake (DMI) and nutritional compounds, apparent digestibility of dry matter (DDM) and nutritional compounds and nitrogen balance in lambs. The work was divided into two experiments: In the first, to evaluate the levels of crude glycerin (GG) 0, 20, 40, 60 and 80 g / kg of dry matter (DM) of silage cane sugar over The kinetics of the fermentation, the levels 0, 30, 60 and 90 g / kg DM silage cane sugar on the kinetics of degradation of neutral detergent fiber (NDF) and the levels 0, 28, 55, 82 and 108 g / kg DM silage cane sugar on the intake and dry matter digestibility and nutritional compounds and nitrogen balance in lambs. The kinetic parameters of fermentation were not affected by the inclusion of CG. The inclusion of CG significantly affected the potentially degradable fraction of NDF (A), insoluble fraction potentially degradable NDF (B) and undegradable fraction (I) and estimated increase of 0.526% in the degradation of fraction A and decreases of 1.171 and 0.526% degradation for each 10g CG included respectively in fractions B and I. There was no significant effect of the inclusion of CG on the intake and dry matter digestibility and nutritional compounds and nitrogen balance. The use of CG up to 108 g / kg DM silage cane sugar can be an alternative source of energy for sheep. In the second experiment, the aimed to assess the levels of CG 0, 20, 40, 60 and 80 g / kg of dry matter (DM) of sorghum silage on fermentation kinetics, levels 0, 30, 60 and 90 g / kg DM silage sorghum on the kinetics of degradation, and levels 0, 17, 33, 55 and 70 g / kg DM of sorghum silage on intake and digestibility of DM and nutritional compounds and compounds balance nitrogen in lambs. The kinetic parameters of fermentation, V_{cnf} , K_{dcnf} and L were significantly affected by the inclusion of CG. The first two parameters showed a quadratic response is estimated V_{cnf} maximum (126.62 mL / g DM) for inclusion CG of 54.85 g / kg DM and K_{dcnf} minimum (0.0782 / h) to include 58.75 CG g / kg DM. For the G there was a linear decrease of 0.013 h for each 10g CG / kg DM. Linearly decreased from 0.996% in fraction B degradation for every 10 CG g / kg DM. There was no significant effect of the inclusion of CG on the intake and dry matter digestibility and nutritional compounds and nitrogen balance. The use of between 50 CG and 70 g / kg DM in diets based on sorghum silage can be an alternative source of energy for sheep.

Key-words: alternative feed. coproduct. glycerol. nutritional value. roughage.

SUMÁRIO

| | Pag. |
|--|------|
| 1. INTRODUÇÃO GERAL..... | 9 |
| 2. OBJETIVOS..... | 11 |
| 2.1 Geral..... | 11 |
| 3. REVISÃO DE LITERATURA..... | 12 |
| 3.1 Glicerina bruta para ruminantes: Conceitos, Limitações e Metabolismo | 12 |
| 3.2 Efeitos da glicerina bruta sobre consumo e digestibilidade | 14 |
| 3.3 Técnica semi-automática de produção dos gases <i>in vitro</i> e efeitos da glicerina bruta sobre os parâmetros cinéticos <i>in vitro</i> | 16 |
| 3.4 Silagem..... | 17 |
| 3.5 Balanço de nitrogênio..... | 18 |
| 4. CAPÍTULO I – GLICERINA BRUTA ASSOCIADA À SILAGEM DE CANA-DE-AÇÚCAR EM DIETAS PARA CORDEIROS..... | 21 |
| 4.1 INTRODUÇÃO..... | 22 |
| 4.2 MATERIAL E MÉTODOS..... | 23 |
| 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 30 |
| 4.4 CONCLUSÃO..... | 41 |
| 5. CAPÍTULO II - GLICERINA BRUTA ASSOCIADA À SILAGEM DE SORGO EM DIETAS PARA CORDEIROS..... | 42 |
| 5.1 INTRODUÇÃO..... | 43 |
| 5.2 MATERIAL E MÉTODOS..... | 44 |
| 5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 51 |
| 5.4 CONCLUSÃO..... | 61 |
| REFERÊNCIAS..... | 62 |

1. INTRODUÇÃO GERAL

O uso de técnicas de manejo que favoreçam maior eficiência produtiva na produção de alimentos, tanto de origem vegetal, quanto de origem animal, e que possam reduzir os custos de produção sem prejudicar o consumo e o desempenho dos animais constitui uma importante ferramenta para sustentabilidade do sistema produtivo.

A cultura do sorgo para a produção de silagem vem crescendo a cada ano principalmente em regiões áridas e semiáridas devido a sua maior resistência ao déficit hídrico e as altas temperaturas e maior amplitude de época de plantio (MACHADO et al. 2011).

A conservação da cana-de-açúcar na forma de silagem tem sido apontada como excelente opção em razão dos benefícios em logística e da operacionalidade que a técnica apresenta (GENTIL et al., 2007; LOPES et al., 2007), e também como boa alternativa de manejo dos canaviais, o que possibilita rebrota mais uniforme e aproveitamento da cana-de-açúcar no estágio de melhor valor nutritivo (LOPES & EVANGELISTA, 2010).

No entanto, apenas a silagem de cana-de-açúcar ou de sorgo como alimento exclusivo não é suficiente para suprir as necessidades nutricionais dos cordeiros, principalmente daqueles com potencial produtivo superior a ganhos de 150g/dia. A suplementação com alimentos concentrados tradicionais (milho e farelo de soja), geralmente, tende a suprir a demanda nutricional, mas nem sempre o produtor adquire o produto com preço acessível e, como alternativa, procura por coprodutos regionais para viabilizar economicamente seu sistema produtivo.

Entre os coprodutos gerados pela cadeia produtiva do Biodiesel com potencial de uso na alimentação de ruminantes, destaca-se a glicerina bruta (GB). A viabilidade do uso da GB como fonte de energia para ruminantes além de gerar mais opções aos produtores, viabiliza um destino ecologicamente correto no aproveitamento deste coproduto. Para que a utilização da GB se torne realidade, são necessárias pesquisas que resultem em respostas concernentes aos seus efeitos sobre a fermentação e digestão dos alimentos no rúmen, obtenção dos níveis ótimos de inclusão na dieta, desempenho e impactos na saúde dos animais alimentados com a mesma.

O Ministério da Agricultura, Abastecimento e Pecuária (MAPA) em outubro de 2010 estabeleceu restrições de padrões mínimos de qualidade para o uso da GB na alimentação animal, em que considera mínimo de 80% de glicerol e no máximo 13% e 150 mg/kg, de umidade e metanol, respectivamente, sendo que os teores de sódio e matéria mineral deverão ser garantidos pelos fabricantes.

Contudo, apesar da GB ser autorizada para o uso nas dietas de animais, com exceção da GB obtida de gordura animal, óleo de mamona e pinhão-manso devido ao potencial de toxicidade (MAPA, 2010), há pouca informação disponível sobre a cinética de fermentação e degradação, consumo e digestibilidade da matéria seca (MS) e compostos nutricionais e balanço de compostos nitrogenados em cordeiros alimentados com volumosos tropicais em associação a GB.

Considerando a possibilidade de existir um determinado nível de inclusão de GB na dieta de ruminantes que possa interferir negativamente no consumo e digestibilidade da fração fibrosa de forrageiras tropicais e que, a combinação entre diferentes fontes de carboidratos e proteínas pode proporcionar melhor aproveitamento de dietas com GB, é de fundamental importância que sejam feitas pesquisas com intuito de avaliar o potencial de fontes de volumosos tropicais sob diferentes níveis de GB para que se possa recomendar de forma criteriosa, potencializar a disponibilidade de energia a baixo custo e promover maior desempenho bioeconômico.

2.0 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar os efeitos da glicerina bruta sobre a cinética da fermentação e degradação, consumo e a digestibilidade total da matéria seca e compostos nutricionais e balanço de compostos nitrogenados em cordeiros alimentados a base de silagens de cana-de-açúcar ou de sorgo.

3.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Glicerina bruta para ruminantes: Conceitos, Limitações e Metabolismo

Conceitualmente o termo glicerina aplica-se aos produtos comerciais à base de glicerol, e apresenta características como: líquido incolor, inodoro, higroscópico com sabor adocicado e aparência viscosa. Já o termo glicerol aplica-se normalmente ao componente químico puro (-1,2,3- triol, 1,2,3-propanotriol, 1,2,3-trihidroxipropano e álcool glicerol) (DONKIN, 2008).

A glicerina bruta (GB) pode ser definida como coproduto resultante do processo de produção do biodiesel sem sofrer qualquer tipo de purificação, via esterificação de ácidos graxos de origem vegetal ou animal com alcoóis de cadeia curta, geralmente (metanol ou etanol), na presença de um catalisador, comumente hidróxido de sódio ou potássio (DONKIN et al., 2009). Pode apresentar quantidades variáveis de sabão, álcool (metanol ou etanol), monoacilglicerol, diacilglicerol, oligômeros de glicerol, polímeros, água e apresenta-se na forma líquida viscosa parda escura (THOMPSON & HE, 2006).

A GB provinda da reação de transesterificação apresenta em média, 75 a 80% de glicerol, ácidos graxos residuais não convertidos em biodiesel (7 a 13%), minerais oriundos dos catalisadores KOH ou NaOH (2 a 3%), álcool (<0,5%) sendo o restante composto por água (KERR et al., 2007).

A grande variação nas características físicas, químicas e nutricionais da GB se dá graças às diferentes fontes da qual é obtida e do tipo de catálise empregada na produção de biodiesel. O processo que envolve a reação de transesterificação é o mais difundido no Brasil e vantajoso, visto que, para cada 100 litros de biodiesel, são produzidos, aproximadamente, 7,9 litros de glicerina bruta (THOMPSON & HE, 2006).

Segundo Fávaro (2010) entre setembro a dezembro de 2008, a GB apresentou valor comercial de 0,18 R\$/kg. O baixo valor comercial da GB pode ser atribuído ao grande volume deste coproduto gerado pelas indústrias e ao conteúdo de impurezas adquiridos no processo de produção. A maior parte das impurezas podem ser

consequência do sabão formado pela reação dos ácidos graxos livres com excesso de catalisador (saponificação). A formação de sabão confere o aspecto de aparência viscoso e escuro para a GB (RIVALDI et al., 2007).

Além das limitações de ordem química, como teor de Na ou K, metanol ou etanol entre outros contaminantes, a disponibilidade por região associado à logística de transporte, pode ser considerado como principal entrave na utilização e aceitabilidade da GB entre os produtores. No período experimental (março a junho de 2012) houve grande dificuldade em adquirir a GB na região sul da Bahia, e o local mais próximo situa-se na região metropolitana de Salvador (aproximadamente 450 km de Salvador) onde o gasto com o frete, pode inviabilizar o uso na alimentação animal desta região.

O uso da GB como substrato energético na dieta para ruminantes é justificado pelo fato do glicerol ser uma molécula gliconeogênica. De acordo com Donkin (2008) a GB utilizada na dieta, constituída de 80 a 90% de glicerol, após ingestão poderá ter três destinos no rúmen: 1- pode ser rapidamente fermentada a ácidos graxos voláteis (AGVs), principalmente a propionato e acetato (DONKIN et al. 2009), com posterior absorção através do epitélio da parede ruminal; 2- pode ser diretamente absorvido pelo epitélio da parede ruminal (REMOND et al., 1993; KREHBIEL, 2008), sendo carregado até o fígado e convertido em glicose através da ação da enzima glicerolquinase, a qual converte glicerol e ATP a glicerol-3-fosfato e ADP ao nível de triose fosfato, direcionando o glicerol para a gliconeogênese (KREHBIEL, 2008); 3- uma menor fração pode escapar via orifício omasal, seguindo para intestino delgado (KREHBIEL, 2008).

A depender do estágio fisiológico ou da condição nutricional, o glicerol e os ácidos graxos livres destinados às células podem ter três destinos metabólicos: a) ser convertidos novamente a triglicerídeos e armazenados no tecido adiposo, no caso de balanço energético positivo; b) ser oxidados e produzir ATP, quando em balanço energético negativo; ou c) ser direcionados para a síntese da gordura do leite, em animais lactantes (BERCHIELLI et al., 2011). Dessa forma a GB apresenta grande potencial como substrato gliconeogênico para ruminantes.

3.2 Efeitos da glicerina bruta sobre o consumo e digestibilidade

Os efeitos da inclusão de GB na dieta de ruminantes sobre o consumo e digestibilidade da matéria seca e compostos nutricionais são variáveis.

Lage et al. (2010) avaliando GB com 36,20% de glicerol e 46,48% de ácidos graxos, em substituição parcial ao milho em 0, 30, 60, 90 e 120 g/kg de matéria seca (MS) do concentrado, verificaram redução linear no consumo de MS (CMS), matéria orgânica (CMO), carboidratos não fibrosos (CNF), proteína bruta (PB), fibra detergente neutro corrigida para cinzas e proteínas (FDNcp) e nutrientes digestíveis totais (NDT) com o acréscimo da GB, efeito quadrático sobre a digestibilidade da fibra detergente neutro (FDN) e efeito linear decrescente sobre a digestibilidade do extrato etéreo (EE) em cordeiros alimentados com dietas contendo 30% de silagem de milho e 70% de concentrado.

Parsons et al. (2009), utilizando dietas com alta proporção de concentrado (940g/kg), à base de milho e farelo de soja e feno de alfafa como volumoso, forneceram 0, 20, 40, 80, 120 e 160 g de glicerina /kg da MS em substituição ao milho na dieta de novilhas de corte em terminação. Observou-se redução linear no consumo de matéria seca para os animais que receberam concentrações a partir de 40 g/kg de MS.

Parsons & Drouillard (2010) não verificaram efeitos sobre o consumo de MO, PB, EE, amido e FDN quando a glicerina substitui o milho em até 40g/kg da MS, em dietas contendo 90% de concentrado para novilhos de corte.

Elam et al. (2008), ao substituir o floco de milho por glicerina (0, 75 e 150 g/kg de MS) em dietas para bovinos mestiços confinados alimentados à base de 91% de concentrado não verificaram efeitos sobre o consumo, ganho de peso e conversão alimentar. Logo, apresentam potencial para uso da glicerina em virtude desta reduzir o custo da dieta.

Pyatt et al. (2007), ao substituir 100 g/kg do milho pela glicerina na dieta de terminação de novilhos, observaram redução no consumo de matéria seca de 10% para os animais alimentados com glicerina, entretanto, verificaram maior ganho de peso e melhor conversão alimentar para os animais que receberam esse ingrediente. Esses

resultados indicam que o fornecimento de glicerina pode melhorar a eficiência de animais alimentados com dietas com elevadas quantidades de alimentos concentrados.

Existem resultados variáveis em relação aos efeitos da GB sobre a digestibilidade da matéria seca e compostos nutricionais. A GB pode afetar negativamente a atividade celulolítica no rúmen diminuindo a digestão das fibras. O efeito da GB sobre a digestibilidade da FDN está associado à redução na degradação da celulose, ocasionada pela inibição da atividade celulolítica por bactérias e fungos no rúmen (ROGER et al., 1992; PAGGI et al., 2004).

Diferenças na digestibilidade da fibra podem ser atribuídas à habilidade dos microrganismos em se adaptar a GB na dieta (PARSONS & DROUILLARD, 2010). Como a taxa de desaparecimento da GB pode aumentar com o passar do tempo, a digestibilidade da fibra poderá ser potencialmente melhorada devido à adaptação dos microrganismos ruminais (KREHBIEL, 2008).

De acordo com Parsons & Drouillard (2010), os impactos da GB sobre a digestibilidade da fibra estão relacionados ao tipo de dieta utilizada. Quando se utiliza dietas a base de grãos, os impactos sobre a digestão da fibra serão menores, visto que a concentração de fibra na dieta é baixa. Por outro lado, quando se utiliza dietas à base de forragem, cuja concentração de fibra é elevada, os impactos sobre a digestão da fibra são mais preocupantes.

Parsons & Drouillard (2010) não verificaram efeitos significativos da inclusão de GB em até 40g/kg de MS em substituição ao milho floculado a vapor na dieta de bovinos de corte sobre a digestibilidade aparente total da MS, MO, PB, FDN e EE.

Paggi et al. (1999) relataram que a GB pode afetar negativamente o metabolismo proteico. Esses autores adicionaram 50, 100, 200 e 300 mM de GB ao meio de cultura e observaram redução de até 20% da atividade proteolítica em comparação ao meio sem GB. Por outro lado em experimentos *in vivo* não tem sido observado efeito sobre a digestibilidade da PB quando a GB é incluída em até 200 g/kg de MS (LAGE, et al., 2010; PARSONS & DROUILLARD, 2010; FÁVARO, 2010; COSTA, 2011).

3.3 Técnica semi-automática de produção dos gases *in vitro* e efeitos da glicerina bruta sobre os parâmetros cinéticos *in vitro*

Dentre as metodologias *in vitro*, a técnica semi-automática de produção dos gases *in vitro* (MAURÍCIO et al., 1999) têm demonstrado ser eficiente na avaliação do valor nutritivo dos alimentos.

Por ser uma técnica de potencial conhecido, relativamente simples, de fácil condução e baixo custo na implantação e por amostra analisada em comparação aos métodos que envolvem ensaios *in vivo*, a técnica semi-automática de produção dos gases *in vitro* (MAURÍCIO et al., 1999), a qual consiste na mensuração do volume dos gases produzidos durante a fermentação microbiana em tempos pré-determinados ao longo da incubação, sendo a leitura realizada a partir de um transdutor de pressão (PELL & SCHOFIELD, 1993; MAURÍCIO et al., 1999), têm se tornado cada vez mais atrativa nos estudos avaliando alimentos para ruminantes, pela possibilidade de avaliar grande quantidade de amostra em curto espaço de tempo com alta precisão (MAURÍCIO et al., 2003).

Além de descrever a cinética de fermentação ruminal e fornecer informações sobre a taxa e extensão da degradação de forrageiras através da simulação do ambiente ruminal e digestão microbiana (MAURÍCIO et al., 2003), a técnica permite a mensuração dos produtos da fermentação de partes solúveis e insolúveis dos alimentos (PELL & SCHOFIELD, 1993) a qual apresenta elevada correlação com a degradabilidade aparente e verdadeira *in vitro*, e degradabilidade ruminal *in vivo* (BLÜMMEL et al. 1997).

O mecanismo de ação da GB (glicerol) sobre os microrganismos ainda é desconhecido, porém acredita-se que torne o substrato menos acessível às células microbianas. A ação inibitória do glicerol pode ser dupla. O composto pode inibir a excreção de celulase dos microrganismos, ou por modificar seu sítio de ação ou alterar a afinidade com substrato, assim como pode afetar a permeabilidade da parede celular bacteriana modificando a excreção de celulases (ROGER et al., 1992).

Ferraro et al. (2009) estudando os parâmetros de fermentação e a produção de gás *in vitro* de três fontes energéticas (glicerol, propileno glicol e melaço) observaram que o glicerol apresenta elevado tempo de latência, entre 10,23 e 12,85 horas quando

utilizado como substrato energético exclusivo, em concentrações de 320 e 640 μL , respectivamente, indicando que a fermentação pelos microrganismos ruminais pode ser lenta.

De acordo com Roger et al. (1992) a adesão, o crescimento e a atividade celulolítica de duas bactérias celulolíticas ruminais (*Ruminococcus flavefaciens* e *Fibrobacter succinogenes*) foram reduzidas quando o glicerol foi incluído ao meio de cultura em até 5%. Estes autores ressaltaram que a inclusão de glicerol em concentrações menores pode ser benéfica aos microrganismos ruminais.

3.4 Silagem

Silagem pode ser definida como produto final da fermentação da massa compactada de forragem em ambiente anaeróbico. A conservação do material ensilado é garantida por uma boa compactação, pelo ambiente anaeróbico e pela fermentação bacteriana, a qual consome os açúcares disponíveis convertendo-os em ácidos orgânicos, principalmente láctico, acético e butírico.

A conversão dos carboidratos solúveis em ácidos orgânicos é orientada tanto pela quantidade e tipo de microrganismo predominante no ambiente, quanto pelo teor de matéria seca, poder tampão e teor de carboidratos solúveis da forragem utilizada. O objetivo da ensilagem é manter a qualidade ou as características do alimento com mínimas perdas de matéria seca e energia durante a sua conservação (MUCK, 1988).

Algumas características presentes nas plantas são essenciais para obter os padrões de fermentação desejáveis para produzir uma silagem de boa qualidade, tais como: quantidades adequadas de substratos fermentescíveis (6-8% de carboidratos solúveis na MS), poder tampão relativamente reduzido e porcentagem de MS acima de 30% (McDONALD et al., 1991).

De modo em geral, as plantas forrageiras nos trópicos são caracterizadas por apresentarem baixa concentração de matéria seca e carboidratos solúveis nos estágios de crescimento em que apresentam bom valor nutritivo, colocando em risco o processo de conservação em razão da maior probabilidade de ocorrência de fermentações secundárias (McDONALD et al., 1991).

A conservação da cana-de-açúcar na forma de silagem tem sido apontada com uma opção em razão dos benefícios em logística e operacionalidade que a técnica apresenta e como boa alternativa de manejo dos canaviais, possibilitando uma rebrota mais uniforme e aproveitamento da cana no estágio de melhor valor nutritivo (LOPES et al., 2007).

O uso do sorgo para ensilagem vem crescendo a cada ano, principalmente em regiões áridas e semiáridas onde a cultura se sobressai com boa produtividade, devido a sua maior resistência ao déficit hídrico e as altas temperaturas, maior amplitude de época de plantio, possibilidade de aproveitamento de rebrota e menor custo de produção por hectare (MACHADO et al., 2011).

3.5 Balanço de Nitrogênio

O balanço de nitrogênio (BN), sob condições controladas, fornece uma estimativa do metabolismo proteico e constitui um método de avaliação dos alimentos e do estado nutricional do animal (SILVA & LEÃO, 1979), fornecendo subsídios para prever a resposta produtiva.

Conceitualmente pode ser definido como a medida da ingestão de nitrogênio, presente nas proteínas, menos o nitrogênio excretado ou perdido pelo organismo durante um determinado tempo, geralmente um período de 24 horas. Assim, o BN resulta da diferença entre o nitrogênio ingerido (NI) e o nitrogênio excretado (urina, fezes e outras perdas) e representa o que efetivamente ficou retido no organismo animal:

$$BN = (N \text{ Fornecido} - N \text{ Sobras}) - (N_{\text{urinário}} + N_{\text{fecal}} + N_{\text{outras perdas}})$$

O NI é calculado pela quantidade de proteína ingerida dividida por 6,25. As perdas diárias de nitrogênio são calculadas pelo nitrogênio presente na ureia excretada na urina em 24 horas, pelas perdas de N pelas fezes e pele (que em termos práticos não é utilizada).

A avaliação do BN no animal e da concentração de uréia no soro e na urina permite a obtenção de informações a respeito da nutrição proteica dos ruminantes, o que pode ser importante para evitar prejuízos produtivos, reprodutivos e ambientais, decorrentes do fornecimento de quantidades excessivas de proteína ou da inadequada sincronia energia-proteína no rúmen (PESSOA et al., 2009), uma vez que estes afetam a síntese de proteína microbiana e, conseqüentemente, o aporte de aminoácidos para o intestino delgado e a perda de nitrogênio na forma de amônia.

Zeoula et al. (2006), ao testar o efeito de quatro teores de proteína degradável no rúmen (PDR) (460, 500, 540 e 580 g/kg de PB) em associação a uma fonte de amido de baixa degradabilidade (milho moído) para ovinos, não observaram efeito sobre o nitrogênio ingerido (NI) (31,68 g N/dia), o N excretado nas fezes (6,34 g/dia) e na urina (11,31 g/dia) e, conseqüentemente, sobre o balanço de nitrogênio (44,27 %/N ingerido), demonstrando que houve sincronização na disponibilidade de energia e N para a síntese microbiana.

Por outro lado, Prado et al. (2004) observaram melhores coeficientes de digestibilidade da PB (86,5%) em rações com diferentes teores de PDR e farinha de mandioca (fonte de alta degradabilidade ruminal) fornecidos a ovinos em dietas com 14,8% PB, denotando melhor metabolismo do N, refletido pela maior digestibilidade da PB e BN (51,4% NI). Evidenciando maior eficiência no uso da PDR com o fornecimento de uma fonte de carboidrato de maior disponibilidade ruminal.

De acordo com Lavezzo et al. (1996) a excreção de N via urinária supera a excreção fecal como consequência do elevado teor de PB e do excesso de amônia resultante as rápida hidrólise ruminal da uréia e da posterior absorção pela parede ruminal, aumentando a excreção de uréia na urina.

É consenso que há uma correlação positiva entre as concentrações de ureia plasmática e urinária, bem como entre a concentração de ureia na urina com a ingestão de N e a relação proteína:energia da dieta (HARMEYER & MARTENS, 1980; VAN SOEST, 1994).

Segundo Cavalcante et al. (2006), a menor excreção dos compostos nitrogenados ocorre quando se utilizam dietas com menores teores proteicos, pois o

aumento excessivo da PB da dieta pode ocasionar excesso na liberação de uréia, via urina, constituindo desperdício de proteína.

A proporção de concentrado e o tipo de alimento também pode afetar o balanço de nitrogênio. Cardoso et al. (2000), ao avaliar o BN em novilhos F1 Limousin x Nelore alimentados com rações contendo 250; 375; 500; 625 e 750 g/kg de concentrado, mas sem variar o teor de PB das dietas, não constataram influência dos tratamentos sobre o NU, obtendo média de 35,51g/d. Esse comportamento vem corroborar a afirmativa de Van Soest (1994), de que a concentração de uréia na urina é correlacionada com a ingestão de N.

Henrique et al. (2003) avaliaram o balanço nitrogenado em ovinos de aproximadamente nove meses de idade e fizeram a substituição do milho por polpa cítrica (0, 250, 400 e 550 g/kg) em dietas com 80% de concentrado na MS. Estes autores relataram aumento linear no aproveitamento (digestibilidade) da proteína bruta com o incremento da polpa cítrica, e embora a qualidade da PB deste alimento seja inferior a do milho, os resultados podem estar relacionados a modificação do ambiente ruminal, com melhoria dos padrões de fermentação ruminal e incrementam o aproveitamento dos nutrientes da dieta. O balanço nitrogenado foi superior nas dietas com maior participação da polpa cítrica, já que foi observada elevação do consumo de MS e de NDT e da digestibilidade da PB e, por conseguinte elevação do N absorvido e retido.

CAPÍTULO I

GLICERINA BRUTA ASSOCIADA À SILAGEM DE CANA-DE-AÇÚCAR EM DIETAS PARA CORDEIROS

CAPÍTULO I

GLICERINA BRUTA ASSOCIADA À SILAGEM DE CANA-DE-AÇÚCAR EM DIETAS PARA CORDEIROS

4.1 Introdução

A glicerina bruta (GB), coproduto que tem como base na sua composição química o glicerol, é oriunda da produção de biodiesel e tem despertado o seu uso como fonte energética alternativa na dieta para animais ruminantes.

O glicerol é bastante utilizado terapeuticamente como fonte energética na nutrição de ruminantes, devido as suas propriedades gliconeogênica e anticetogênica (RÉMOND et al., 1993; BODARSKI et al., 2005). Os efeitos da sua utilização como substituto para o milho sobre o desempenho e consumo de matéria seca e fatores nutricionais já foram relatados na literatura (DONKIN et al., 2007; PARSONS et al., 2009). Entretanto, os efeitos do glicerol sobre os padrões de fermentação dos alimentos, a microbiota ruminal, digestibilidade *in vivo* e balanço de compostos nitrogenados em pequenos ruminantes é pouco conhecido, principalmente utilizando volumosos tropicais.

Alterações na fermentação ruminal provocadas pela inclusão de fontes alimentares alternativas podem alterar a quantidade de nutrientes ingeridos passíveis de absorção, já que esta depende da taxa de fermentação ruminal e do tempo de permanência ao ataque microbiano, pois a fração efetivamente degradada é função das taxas de degradação e passagem. Além disso, a taxa e extensão de degradação ruminal dependem, principalmente, da natureza e do teor dos componentes da parede celular e da disponibilidade ruminal de nitrogênio. Assim, os sistemas químicos de análise, juntamente com a cinética de degradação ruminal, possibilitam a estimativa mais precisa do valor nutritivo das forragens (MELLO et al. 2006).

Diante do exposto, objetivou-se avaliar: os efeitos de diferentes níveis de GB sobre a cinética de fermentação ruminal *in vitro*, a cinética de degradação *in vitro* da fibra detergente neutro (FDN), o consumo e digestibilidade da matéria seca e fatores nutricionais e balanço de compostos nitrogenados em cordeiros alimentados com silagem de cana-de-açúcar.

4.2 Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Alimentação de Ruminantes (LaPNAR) do Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais, na Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus-Ba, durante os meses de março a junho de 2012. A utilização dos animais nos experimentos foi autorizada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Santa Cruz, sob o Protocolo nº 033, 034 e 035/2010.

Na produção da silagem de cana-de-açúcar foi utilizada o cultivar RB-72454 com 18 meses após rebrota. O processo de ensilagem foi realizado nos dias 10 e 11/02/2012. No processo de picagem da cana-de-açúcar, utilizou-se ensiladora mecânica para que o tamanho das partículas ficassem aproximadamente com 2 cm. Foram utilizados 50 tonéis com capacidade de 120 kg como silo. A compactação do material foi feita com pisoteio da forragem e os tonéis foram vedados com tampas plásticas e anilhas de metal de vedação.

Após a abertura de dez silos foram coletadas amostras simples da silagem, posteriormente foram feitas amostras compostas, pré-secas em estufas de circulação forçada de ar em temperatura de 55°C por 72 horas e moídas a 1mm para serem utilizadas nas incubações.

Antes de iniciar as incubações, as amostras da silagem foram submetidas às análises de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), matéria mineral (MM) de acordo com AOAC (1990). Para análise de fibra detergente neutro (FDN), as amostras foram tratadas com alfa-amilase termoestável, sem o uso de sulfito de sódio e corrigidas para cinzas residuais (MERTENS, 1992) e compostos nitrogenados conforme as recomendado por Licitra et al., 1996. Nas análises de FDN utilizou-se sacos de tecido-não-tecido (TNT, 100 g/m²) (CASALI et al., 2009), com dimensões de 5 cm x 5 cm, na proporção de 20 mg MS/cm² de área superficial do saco (NOCEK, 1988).

O conteúdo de lignina foi obtido por meio da solubilização da celulose pelo ácido sulfúrico (VAN SOEST & ROBERTSON, 1985). O conteúdo de carboidratos não fibrosos (CNF), expresso em % na MS, foi calculado de acordo com Hall (2000) como: $100 - (\%FDN + \%PB + \%EE + \%MM)$

A composição química média da silagem de cana-de-açúcar e glicerina bruta utilizada nas incubações encontra-se na Tabela 1.

Tabela 1. Composição química da silagem de cana-de-açúcar e glicerina bruta utilizada no experimento

| Item | Silagem de cana-de-açúcar | Glicerina bruta |
|------------------------------|---------------------------|-----------------|
| Matéria seca (g/kg) | 166,0 | 800,0 |
| Matéria mineral (g/kg MS) | 44,7 | 35,0 |
| Proteína bruta (g/kg MS) | 28,3 | - |
| FDNcp ¹ (g/kg MS) | 676,6 | - |
| Lignina (g/kg MS) | 77,1 | - |
| Extrato etéreo (g/kg MS) | 15,6 | 125,0 |
| CNF ² (g/kg MS) | 234,7 | - |
| MSi ³ (g/g) | 0,5 | - |
| FDNi ⁴ (g/g) | 0,5 | - |
| FDAi ⁵ (g/g) | 0,4 | - |

¹FDNcp: fibra detergente neutro corrigida para cinzas e proteína. ²CNF: Carboidratos não fibrosos. ³MSi: matéria seca indigestível. ⁴FDNi: fibra detergente neutro indigestível. ⁵FDAi: fibra detergente ácido indigestível.

Para avaliação da cinética de fermentação utilizou-se a técnica de produção dos gases *in vitro* de acordo com o descrito por Mauricio et al. (1999). Em frascos de 50 mL foi adicionado CO₂ e 0,3 g da amostra de silagem de cana-de-açúcar, associadas com os níveis 0, 20, 40, 60 e 80 g de GB/ kg de MS da silagem de cana-de-açúcar, com três réplicas para cada mistura. Além destes foram incluídos mais três frascos contendo apenas fluido ruminal e meio de cultura (saliva artificial), servindo como controle (branco). A produção dos gases destes últimos frascos foi descontada das obtidas nos frascos que continham amostras.

A cada frasco foi adicionado 28,125 mL de meio de cultura contendo minerais e tamponantes (THEODOROU et al., 1994). As soluções foram preparadas 2 horas antes da incubação e mantidas em banho-maria a 39°C.

O fluido ruminal utilizado nas inoculações foi composto pela mistura dos fluidos ruminais de dois bovinos sem raça definida, portadores de cânulas ruminais, mantidos em pasto de capim braquiária, com acesso livre a sal mineral e água. Os bovinos foram mantidos em jejum hídrico e alimentar nas 12 horas que antecederam a coleta do fluido.

Utilizou-se uma garrafa térmica pré-aquecida para transporte do fluido até o laboratório onde foi filtrado, através de camadas de gaze de algodão misturados nas mesmas proporções e saturados com CO₂, e mantido em banho-maria a 39°C. O fluido ruminal (3,125 mL) foi inoculado nos frascos contendo amostras e meio de cultura, vedados com tampas de borracha expansivas e mantidos em estufa (39°C) até o momento das leituras.

As leituras de pressão dos gases (psi, pressão por polegada quadrada) produzidos durante as fermentações foram realizadas às 0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 24, 28, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 108, 120 e 144 horas após o início da incubação, e mensuradas de forma semi automática por intermédio de um transdutor de pressão, com uma agulha acoplada a sua extremidade. As medidas de pressão obtidas foram ajustadas para o volume de gases conforme a equação estimada de Santos et al. (2010):

$$V = 0,04755 + 1,9754 * p + 0,01407 * p^2,$$

em que "V" é o volume dos gases (mL) e "p" é a pressão dos gases dentro dos frascos de fermentação (psi).

A cinética da produção cumulativa dos gases foi avaliada empregando-se o modelo logístico bicompartimental para a estimativa dos seus parâmetros (SCHOFIELD et al., 1994):

$$V(t) = (V_{cnf} / (1 + \exp(2 - 4 * K_{dcnf} * (T - L)))) + (V_{cf} / (1 + \exp(2 - 4 * K_{dcf} * (T - L)))),$$

em que V(t) é o volume acumulado no tempo t; V_{cnf}, o volume de gás oriundo da fração de rápida digestão ou dos carboidratos não fibrosos (CNF); K_{dcnf} (h⁻¹), a taxa de degradação da fração de rápida digestão ou dos (CNF); L, latência ou tempo de colonização em horas; T, o tempo (h); V_{cf}, o volume dos gases da fração de lenta degradação (B2); K_{dcf} (h⁻¹), taxa de degradação da fração B2. O volume máximo de produção dos gases (VT) foi obtido da seguinte forma: V(t) = V_{cnf} + V_{cf}.

Para avaliação da cinética de degradação da fibra detergente neutro (FDN) (técnica gravimétrica) utilizou-se o mesmo modelo de incubação descrito para produção dos gases *in vitro*, adotando os tempos de retirada dos frascos 0, 2, 4, 8, 12, 24, 48, 60, 72, 96, 120, 144 e 264 horas após incubação.

Os tratamentos foram constituídos de 0, 30, 60 e 90 g de GB/kg de MS de silagem de cana-de-açúcar. Após a retirada dos frascos nos respectivos tempos, os mesmos foram armazenados a 2°C, posteriormente filtrados em cadinhos filtrantes de pesos conhecidos, previamente secos em estufa de 105°C por 18 horas. Os resíduos obtidos após secagem em estufa de 105°C por 24 horas foram pesados para obter as estimativas do desaparecimento da matéria seca (MS). Posteriormente, os resíduos obtidos foram lavados em solução de FDN por 50 minutos utilizando o equipamento Autoclave (0,5 kgf/cm², 111°C) de acordo com o procedimento de Pell & Schofield (1993), para determinação do desaparecimento da fração fibrosa.

Utilizou-se o modelo exponencial decrescente, corrigido para o período de latência descrito por Sampaio et al. (1995) para estimativa dos parâmetros:

$$Y = A - B * \exp(-c*t),$$

em que: Y é o resíduo da FDN no tempo t; A, a fração potencialmente degradável da FDN; B, a fração insolúvel potencialmente degradável da FDN; exp, a base dos logaritmos neperiano; c, a taxa de degradação da fração B por unidade de tempo (h⁻¹); e t, o tempo de incubação. Sendo que a fração indegradável (I) é igual a 100 - A.

A matéria seca indigestível (MSi), fibra detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra detergente ácido indigestível (FDAi) da amostra da silagem de cana-de-açúcar foi obtida após incubação *in vitro* durante 264 horas. Após a retirada dos frascos no respectivo tempo, os mesmos foram armazenados a 2°C, posteriormente filtrados em cadinhos filtrantes de pesos conhecidos, previamente secos em estufa de 105°C por 18 horas.

Os resíduos obtidos após secagem em estufa de 105°C por 24 horas foram lavados em água (40 °C) e posteriormente pesados para obter as estimativas da matéria

seca indigestível (MSi). Posteriormente, os resíduos obtidos foram lavados em solução de FDN, para determinação da fibra detergente neutro indigestível (FDNi), e depois lavados em solução de FDA, para determinação da fibra detergente ácido (FDAi). Ambos procedimentos foram realizados em equipamento Autoclave (0,5 kgf/cm², 111°C, por 50 minutos) de acordo com o procedimento de Pell & Schofield (1993).

No experimento *in vivo*, os animais foram alojados em gaiolas metabólicas apropriadas, providas de cochos individuais para alimentos e mistura mineral, bebedouro e sistema de captação de fezes e urina. Antes de se iniciar o experimento, todos os animais foram pesados, identificados e tratados contra ecto e endoparasitas.

Foram utilizados cinco cordeiros machos, sem raça definida, com peso médio inicial de $22,83 \pm 5,49$ kg, distribuídos casualmente em um delineamento em quadrado latino 5x5, sendo cinco níveis de GB e cinco períodos de coleta, de acordo com o modelo matemático:

$$Y_{ij(k)} = m + P_i + A_j + t_k + \varepsilon_{ij(k)},$$

em que Y_{ij} = variável resposta; m = média geral; P_i = efeito do período i ; A_j = efeito da animal j ; t_k = efeito do tratamento k e $\varepsilon_{ij(k)}$ = erro experimental.

A cada animal ou unidade experimental destinou-se, casualmente, um dos cinco tratamentos, os quais foram constituídos por substituição de 0, 20, 40, 60 e 80 g/kg da matéria natural (MN) da silagem de cana-de-açúcar, representando respectivamente, 0, 28, 55, 82 e 108 g de GB/kg de matéria seca (MS) da silagem de cana-de-açúcar (Tabela 2).

As dietas foram fornecidas duas vezes ao dia, permitindo-se sobras de 5 a 10% da MN e todos os animais experimentais receberam água a vontade. Utilizou-se a mistura uréia: sulfato de amônio (9:1) para ajustar o teor de proteína bruta (PB) 13% na MS da dieta. Foram fornecidas 10 g mistura mineral/ kg MS da dieta/ animal diariamente em cochos separados.

Tabela 2. Proporção de ingredientes e composição química das dietas em função dos níveis de glicerina bruta

| Composição | Nível de glicerina bruta (g/kg MS) | | | | |
|-----------------------|------------------------------------|----|----|----|-----|
| | 0 | 28 | 55 | 82 | 108 |
| Ingrediente (g/kg MS) | | | | | |

| | | | | | |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|
| Silagem de cana | 945,2 | 918,5 | 892,5 | 866,9 | 841,6 |
| Glicerina bruta | 0,0 | 27,8 | 55,0 | 81,9 | 108,4 |
| Ureia | 40,9 | 39,9 | 38,7 | 37,6 | 36,5 |
| Suplemento mineral ⁽¹⁾ | 14,0 | 14,0 | 13,9 | 13,8 | 13,7 |
| Composição Química | | | | | |
| Matéria seca (g/kg) | 211,3 | 228,1 | 244,3 | 260,4 | 276,2 |
| Matéria orgânica (g/kg MS) | 903,0 | 877,4 | 852,7 | 828,1 | 804,1 |
| Proteína bruta (g/kg MS) | 141,5 | 137,6 | 133,6 | 129,7 | 125,9 |
| FDNcp ⁽²⁾ (g/kg MS) | 639,5 | 621,4 | 603,8 | 586,4 | 569,3 |
| Carboidratos não fibrosos (g/kg MS) | 107,3 | 100,6 | 94,5 | 88,3 | 82,3 |
| Extrato etéreo (g/kg MS) | 14,7 | 17,8 | 20,8 | 23,7 | 26,6 |
| Fibra detergente ácido (g/kg MS) | 468,5 | 455,3 | 442,5 | 429,8 | 417,3 |
| Proteína insolúvel em detergente neutro (g/kg MS) | 4,5 | 4,4 | 4,3 | 4,2 | 4,0 |
| Proteína insolúvel em detergente ácido (g/kg MS) | 4,1 | 4,0 | 3,9 | 3,8 | 3,7 |
| Lignina (g/kg MS) | 72,8 | 70,8 | 68,8 | 66,8 | 64,9 |

⁽¹⁾ Composição (kg produto): Ca, 130-150 g; P, 65 g; Na, 130 g; Mg, 10g; S, 12 g; F, 650 mg; Mn, 3000 mg; Zn, 5000 mg; Co, 80 mg; Fe, 1000 mg; Se, 10 mg; I, 60 mg.

⁽²⁾ FDNcp = fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína.

A duração total do experimento foi de 105 dias. Cada período experimental foi composto por 21 dias, sendo 16 dias de adaptação e cinco dias de coleta total, durante os quais registraram-se o consumo de alimentos e a excreção total de fezes e urina. Foram coletadas amostras do alimento fornecido, sobras, fezes, congeladas à -20 °C para posterior secagem e análise química.

A coleta total de fezes foi realizada do 17º ao 21º dia utilizando bolsas coletoras de couro sintético. Após a coleta e pesagem das fezes, realizadas diariamente sempre às 08:00 e 17:00 h, foram retiradas amostras simples equivalentes a 5 a 10% do peso total excretado e no 21º dia foi feita amostra composta para realização das análises laboratoriais.

As amostras de urina foram obtidas de todos os ovinos a partir de coleta total de urina em recipientes (baldes) no piso, contendo 100 mL de solução de ácido sulfúrico a 20% v/v, durante os cinco dias de coletas do experimento. Após o período de 24 horas, foi estimado volume total excretado, sendo as amostras simples homogêneas e congeladas a -20°C, sendo que no 21º dia realizaram-se as amostras compostas por unidade experimental para análise de nitrogênio total.

As amostras das silagens fornecidas, fezes e sobras foram pré-secas e processadas a 1 mm, e submetidas às análises de MS, PB, EE, MM, FDA, FDN, NIDN, NIDA conforme descrito anteriormente.

Os consumos da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteínas (FDNcp), extrato etéreo (EE), carboidratos não fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT), foram calculados a partir do conteúdo dos nutrientes no alimento ofertado descontando o conteúdo nas sobras e os coeficientes de digestibilidade aparente da MS, MO, FDNcp, EE e CNF foram estimados pelo método de coleta total de fezes. Para os cálculos de digestibilidade, adotou-se a fórmula:

$$\text{DAN g/g} = [(\text{NCON} - \text{NEXC})/\text{NCON}] \times 100,$$

em que: DAN = coeficiente de digestibilidade aparente do nutriente; NCON = quantidade do nutriente consumido, em gramas; e NEXC = quantidade do nutriente excretado em gramas. O consumo de MS e fatores nutricionais foi obtido pela diferença entre o alimento ofertado e a sobra no final do período de 24 horas.

O balanço dos compostos nitrogenados foi calculado pela diferença entre o nitrogênio ingerido (NI) e o nitrogênio excretado (urina e fezes). O NI e o nitrogênio excretado foram calculados pela quantidade de proteína ingerida ou excretada em 24 horas dividida por 6,25.

As análises estatísticas para avaliação da cinética da fermentação e degradação *in vitro* foram conduzidas segundo um delineamento inteiramente casualizado composto de três repetições. Já em relação ao ensaio *in vivo*, as análises estatísticas foram conduzidas segundo um delineamento quadrado latino, composto de cinco repetições. Para as variáveis cujo teste F foi significativo, a interpretação estatística dos efeitos dos níveis de substituição da GB foi realizada por meio de análises regressão.

Os critérios utilizados para escolha das equações foram o comportamento biológico, coeficiente de determinação (R^2/r^2), calculado como a relação entre a soma de quadrado de regressão e a soma de quadrado total, e a significância, para os

parâmetros da regressão, obtida pelo teste T. Em todos os procedimentos estatísticos adotou-se o nível de 5% de probabilidade para o erro tipo I. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa estatístico SAS, atendendo todas as pressuposições relacionadas aos erros.

4.3 Resultados e Discussão

Não houve efeito significativo ($P>0,05$) para nenhum dos parâmetros cinéticos da fermentação ruminal *in vitro* avaliados em função dos níveis de glicerina bruta (GB) (Tabela 3). Isto indica ausência de fatores negativos e potencial para substituição da silagem de cana. Desta forma os valores observados para os parâmetros cinéticos estudados podem estar mais associados com a composição química da silagem de cana-de-açúcar do que em função da GB.

O mecanismo de ação da GB (glicerol) sobre os microrganismos ruminais ainda é desconhecido, porém acredita-se que o glicerol pode tornar o substrato menos acessível às células microbianas devido a uma ação inibitória do glicerol, tanto por inibir ou alterar o sítio de ação das celulasas dos microrganismos ou por modificar a afinidade pelo substrato, quanto ao fato do glicerol afetar a permeabilidade da parede celular bacteriana modificando a excreção de celulasas (ROGER et al., 1992).

Contudo, neste trabalho não foram verificados efeitos inibitórios da GB (glicerol) sobre os parâmetros cinéticos avaliados, fato este comprovado pelo efeito não significativo ($P>0,05$) dos níveis de GB sobre o L, Vcnf, kdcnf, Vcf, kdcf e VT (Tabela 3). Os valores médios observados para o L, Vcnf, kdcnf, Vcf, kdcf e VT foram respectivamente 7,91 h; 42,28 mL.g⁻¹; 0,105 h⁻¹; 153,01 mL.g⁻¹; 0,017h⁻¹ e 195,29 mL.g⁻¹ MS (Tabela3).

A inclusão de GB em até 80 g/kg de MS na silagem de cana-de-açúcar não afetou a adesão da microbiota ruminal nas partículas alimentares (estágio que antecede a degradação), o crescimento e atividade bacteriana na fermentação da silagem de cana-de-açúcar, o que pode ser confirmado pelo efeito não significativo ($P>0,05$) observado para o tempo de latência (L) ($\hat{Y} = 7,91$ h) (Tabela 3).

À presença de componentes nutricionais prontamente fermentescíveis, e às propriedades físicas e químicas (antinutrientes) da amostra, são fatores que interferem na ação e fermentação microbiana sobre o substrato a ser fermentado. A silagem de cana-de-açúcar apresentou L médio de 7,91 h, superior ao observado por Cruz et al. (2010) avaliando a cana-de-açúcar *in natura* (5,51 h). Este maior tempo observado pode ser explicado pelo conteúdo de carboidratos não fibrosos (CNF) (234,7 g/kg MS) e lignina (77,1 g/kg MS) quando comparado a cana-de-açúcar *in natura* (540,0 e 53,0 g/kg MS, respectivamente) utilizada por Cruz et al. (2010).

Os valores médios obtidos para os parâmetros V_{cnf} , K_{dcnf} , e V_{cf} ($42,28 \text{ mL.g}^{-1}$, $0,105 \text{ h}^{-1}$, $153,01 \text{ mL.g}^{-1}$) (Tabela 3) foram inferiores aos valores observados por Cruz et al. (2010), cujas estimativas dos parâmetros cinéticos foram $79,9 \text{ mL.g}^{-1}$, $0,218 \text{ h}^{-1}$, $136,6 \text{ mL.g}^{-1}$, respectivamente. No entanto, os valores de K_{dcf} obtidos por estes autores ($0,022 \text{ h}^{-1}$) foram semelhantes ao observado neste trabalho ($0,024 \text{ h}^{-1}$) (Tabela 3).

As diferenças observadas neste estudo em comparação a Cruz et al. (2010) podem estar associadas desde a forma de utilização da cana-de-açúcar, até a composição química e estágio de maturação da planta. A menor taxa de digestão da fração fibrosa da silagem de cana-de-açúcar foi provavelmente devida à elevada concentração de lignina (77,1 g/kg na MS) em sua FDN, o que, de acordo com Cabral et al. (2000), pode limitar o acesso microbiano, retardando a degradação dos compostos da parede celular.

O valor médio da k_{dcnf} ($0,105 \text{ h}^{-1}$) observado para a silagem de cana-de-açúcar encontra-se abaixo dos limites descritos por Lanzas et al. (2007), entre 1 a 3/h para a fração A2, possivelmente devido a fração de CNF da silagem de cana-de-açúcar ser constituída por açúcares solúveis remanescentes e ácidos orgânicos, e esta última fração apresenta taxa de degradação ruminal instantânea, apenas os açúcares solúveis contribuem como substrato energético prontamente disponível para a fermentação ruminal. A fermentação ruminal dos CNF varia intensamente com o tipo de alimento, método de conservação e processamento (NRC, 2001).

Tabela 3. Estimativas dos parâmetros cinéticos de produção dos gases *in vitro* da silagem de cana-de-açúcar com níveis de glicerina bruta, equações de regressão ajustadas

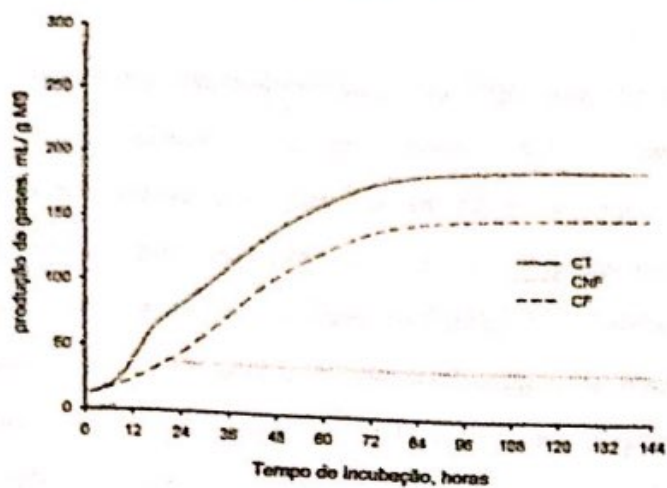
| Parâmetros | Nível de glicerina bruta (g/kg MS) | | | | | EPM ⁷ ± | Equação de regressão |
|---|------------------------------------|--------|--------|--------|--------|-----------------------|----------------------|
| | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | | |
| Vcnf ¹ (mL.g ⁻¹) | 36,85 | 39,42 | 44,75 | 43,24 | 47,17 | 1,3938 | $\hat{Y} = 42,28$ |
| Kdcnf ² (h ⁻¹) | 0,107 | 0,109 | 0,110 | 0,096 | 0,099 | 0,0028 | $\hat{Y} = 0,11$ |
| L ³ (h) | 8,06 | 7,74 | 8,27 | 7,89 | 7,62 | 0,0943 | $\hat{Y} = 7,91$ |
| Vcf ⁴ (mL.g ⁻¹) | 156,29 | 158,33 | 153,59 | 151,10 | 145,75 | 1,8192 | $\hat{Y} = 153,01$ |
| Kdcf ⁵ (h ⁻¹) | 0,017 | 0,0154 | 0,017 | 0,017 | 0,017 | 0,0072 | $\hat{Y} = 0,017$ |
| VT ⁶ (mL.g ⁻¹ MS) | 193,14 | 197,75 | 198,34 | 194,33 | 192,92 | 1,2096 | $\hat{Y} = 195,29$ |

¹Vcnf= volume máximo de produção dos gases da fração dos CNF; ²kdcnf = taxa de digestão para a fração dos CNF; ³L = tempo de colonização; ⁴Vcf= volume máximo da produção de gases da fração dos CF; ⁵kdcf= taxa de digestão para a fração dos CF; ⁶VT = volume máximo de produção de gases dos carboidratos totais; ⁷EPM = erro padrão da média; * $\alpha = 0.05$ de probabilidade para erro tipo I.

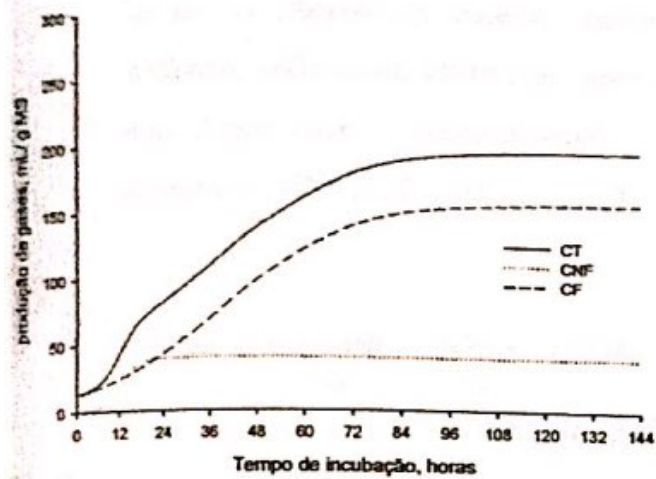
Não houve efeito significativo ($P > 0,05$) dos níveis de GB sobre o (VT, mL.g⁻¹MS), sendo observado valor médio de 195,29 mL.g⁻¹MS respectivamente. O valor observado para a produção total dos gases, possivelmente está relacionada ao baixo valor de CNF da silagem de cana-de-açúcar, fato este comprovado pela composição química (Tabela 1).

Em relação aos parâmetros ajustados da cinética de degradação da FDN *in vitro* da silagem de cana-de-açúcar, verificou-se efeito significativo ($P < 0,05$) dos níveis de GB sobre a fração potencialmente degradável da FDN (A), fração insolúvel potencialmente degradável da FDN (B) e fração indegradável da FDN (I) (Tabela 4).

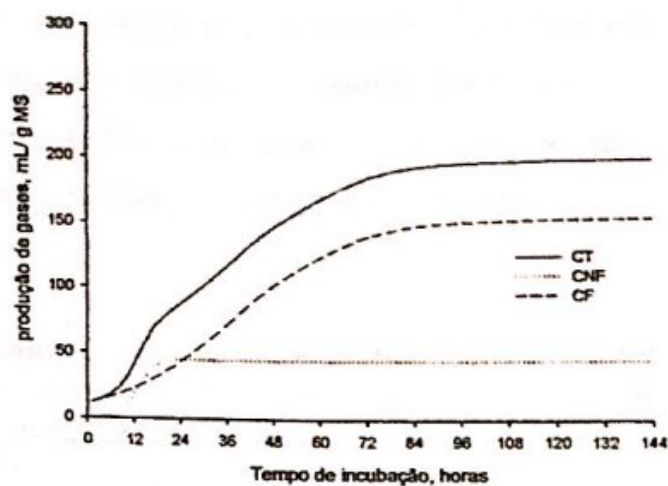
Os microrganismos ruminais podem apresentar sensibilidades diferentes a depender do nível de inclusão de glicerol o que pode refletir em diferenças na degradabilidade das frações que compõem a FDN. Os efeitos do glicerol sobre a degradabilidade da FDN estão mais associados à redução na degradação da celulose, ocasionada pela inibição da atividade celulolítica por bactérias e fungos no rúmen (ROGER et al., 1992; PAGGI et al., 2004).



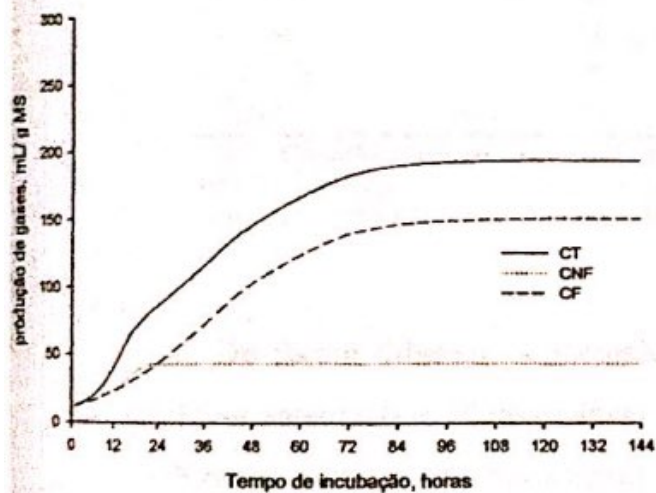
20 g de GB/kg de MS



40 g de GB/kg de MS



60 g de GB/kg de MS



80 g de GB/kg de MS

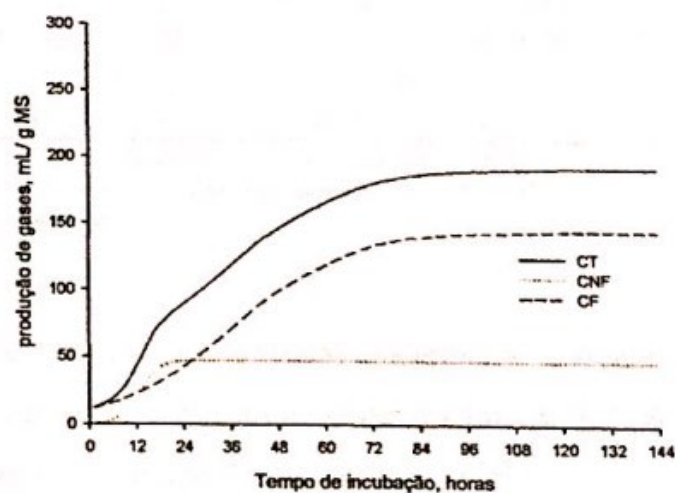


Figura 1. Produção acumulada dos gases da matéria seca (mL/g de MS) da silagem de cana-de-açúcar com níveis de glicerina bruta.

As diferenças na degradabilidade da fibra podem também ser atribuídas à habilidade dos microrganismos em se adaptar a GB na dieta (Parson & Drouillard, 2010) e como a taxa de desaparecimento do glicerol pode aumentar com o passar do tempo, a degradabilidade da FDN poderá ser potencialmente melhorada devido à adaptação dos microrganismos ruminais (KREHBIEL, 2008).

A inclusão da GB favoreceu a degradabilidade da fração A da silagem de cana-de-açúcar, sendo estimada elevação de 0,526 % na degradação para cada 10 g de GB/kg de MS (Tabela 4), possivelmente devido a maior habilidade dos microrganismos em utilizar o substrato energético (glicerol) para atividade microbiana, já que na silagem de cana-de-açúcar há uma menor disponibilidade de carboidratos solúveis, reflexo da utilização destes compostos durante o processo fermentativo no silo. Além disso, o efeito associativo entre as fontes energéticas da silagem de cana-de-açúcar (CNF) e da GB (glicerol) pode ter favorecido na degradação da fração A.

Tabela 4. Parâmetros médios ajustados relativos à cinética de degradação *in vitro* da fibra detergente neutro da silagem de cana-de-açúcar com níveis de glicerina bruta, equações de regressão ajustadas e seus respectivos coeficientes de determinação

| Parâmetros | Nível de glicerina bruta g/kg MS | | | | EPM ⁵ ± | Equação de regressão | R ² /r ² |
|------------------------------------|-------------------------------------|-------|-------|-------|-----------------------|------------------------------|--------------------------------|
| | 0 | 30 | 60 | 90 | | | |
| A ¹ (%) | 53,59 | 54,47 | 56,60 | 58,14 | 0,69 | $\hat{Y} = 53,3328 + 0,526x$ | 0,91 |
| B ² (%) | 32,50 | 27,18 | 24,50 | 21,68 | 1,52 | $\hat{Y} = 31,7361 - 1,171x$ | 0,95 |
| C ³ (/h ⁻¹) | 0,03 | 0,04 | 0,03 | 0,03 | 0,001 | $\hat{Y} = 0,034$ | - |
| I ⁴ (%) | 46,41 | 45,53 | 43,40 | 41,86 | 0,69 | $\hat{Y} = 46,6671 - 0,526x$ | 0,91 |

¹A: degradação potencial da fração FDN; ²B: fração insolúvel potencialmente degradável; ³C: taxa de degradação da fração B por unidade de tempo; ⁴I: fração indegradável da FDN; ⁵EPM: erro padrão médio; * $\alpha = 0,05$ de probabilidade para o erro tipo I.

De forma diferente a inclusão de GB reduziu ($P < 0,05$) linearmente a fração insolúvel potencialmente degradável da FDN (B), verificando-se decréscimo de 1,71% na degradabilidade desta fração para cada acréscimo de 10 g de GB/kg de MS.

Observou-se o mesmo comportamento para a fração indegradável da FDN (I) ($P < 0,05$), com decréscimo de 0,526% para cada 10 g de GB/kg de MS (Tabela 4), o

que leva a inferir que os microrganismos responsáveis pela degradação da fração B e fração I são mais sensíveis a inclusão da glicerina bruta (glicerol).

A taxa de degradação (C) da fração insolúvel potencialmente degradável da FDN da silagem de cana-de-açúcar não foi afetada pela inclusão dos níveis de GB ($P>0,05$), estimando-se o valor médio de $0,0343h^{-1}$ (Tabela 4), o que leva a inferir que apesar da inclusão de GB interferir na degradação da fração B, a taxa de degradação da mesma mantém-se constante.

Em relação ao ensaio *in vivo*, a inclusão de GB em até 108 g/kg MS na silagem de cana-de-açúcar não afetou ($P>0,05$) os consumos de MS, MO, FDNcp, PB, CNF, EE e NDT (Tabela 5). Os valores médios observados para os consumos de MS, MO, FDNcp, PB, CNF, EE e NDT foram respectivamente 264,7; 210,9; 154,7; 37,7; 66,4; 4,6 e 154,3 g/dia (Tabela 5).

Tabela 5. Consumos de fatores nutricionais e nutrientes digestíveis totais (NDT), em cordeiros alimentados a base de silagem de cana-de-açúcar e glicerina bruta

| Item | Nível de glicerina bruta (g/kg MS) | | | | | EPM ⁴ ± | Equação de regressão |
|---|------------------------------------|--------|--------|--------|--------|-----------------------|----------------------|
| | 0 | 28 | 55 | 82 | 108 | | |
| g/dia | | | | | | | |
| Matéria seca | 258,62 | 278,62 | 276,96 | 269,26 | 240,18 | 20,2 | $\hat{Y} = 264,7$ |
| Matéria orgânica | 226,84 | 236,18 | 224,88 | 202,4 | 164,3 | 18,9 | $\hat{Y} = 210,9$ |
| Proteína bruta | 40,64 | 40,92 | 40,38 | 35,86 | 30,92 | 2,6 | $\hat{Y} = 37,7$ |
| FDNcp ¹ | 154,92 | 164,3 | 178,2 | 149,26 | 126,98 | 12,8 | $\hat{Y} = 154,7$ |
| CNF ² | 73,94 | 71,96 | 67,74 | 63,42 | 55,3 | 5,2 | $\hat{Y} = 66,4$ |
| Extrato etéreo | 3,33 | 4,56 | 5,36 | 4,94 | 4,21 | 0,4 | $\hat{Y} = 4,6$ |
| NDT ³ | 129,95 | 178,46 | 170,46 | 153,07 | 139,50 | 20,4 | $\hat{Y} = 154,3$ |
| Matéria seca g/kg PC ⁵ | 11,66 | 13,15 | 13,72 | 11,82 | 10,59 | 1,0 | $\hat{Y} = 12,19$ |
| Matéria seca g/kg ^{0,75} | 25,15 | 28,07 | 28,89 | 25,69 | 23,10 | 2,0 | $\hat{Y} = 26,18$ |
| FDNcp ¹ g/kg PC ⁵ | 7,00 | 7,74 | 8,59 | 6,55 | 5,57 | 0,6 | $\hat{Y} = 7,09$ |
| FDNcp ¹ g/kg ^{0,75} | 15,08 | 16,53 | 18,21 | 14,23 | 12,17 | 1,2 | $\hat{Y} = 15,24$ |

⁽¹⁾FDNcp: fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteínas; ⁽²⁾CNF: carboidratos não fibrosos; ⁽³⁾NDT: nutrientes digestíveis totais. ⁽⁴⁾EMP: erro padrão da média; ⁽⁵⁾PC: peso corporal; * $\alpha = 0,05$ de probabilidade para erro tipo I.

O efeito não significativo ($P>0,05$) dos níveis de GB sobre o consumo de MS e a proporção semelhante dos compostos nutricionais nas dietas (Tabela 2) podem

explicar o efeito não significativo ($P>0,05$) dos níveis de GB sobre os consumos de MO, FDNcp, PB, CNF, EE e NDT.

As proporções de proteína bruta consumida pelos animais (entre 128,7 e 157,14 g/kg MS) apresentaram valores superiores aos relatados por Lazzarini et al. (2009), para obter melhores respostas em relação ao consumo e digestibilidade da MS e FDN.

A fonte de nitrogênio (ureia e compostos nitrogenados do volumoso) e o teor de nitrogênio semelhante entre as dietas, assim como a observação de efeito não significativo ($P>0,05$) sobre o consumo de MS podem ser as prováveis explicações para o efeito não significativo ($P>0,05$) dos níveis de GB sobre o consumo de PB (Tabela 5).

Os efeitos não significativos ($P>0,05$) dos níveis de GB 28, 55, 82 e 108 g/kg de MS na silagem de cana-de-açúcar sobre os consumos de MS e compostos nutricionais demonstram que os resultados observados podem estar mais associados com a composição química da silagem de cana-de-açúcar do que em função da GB.

O consumo médio de MS de 26,18 g/kg^{0,75} observado (Tabela 5) foi inferior a média de 42,6 g/kg^{0,75} relatada por Lopes et al. (2007) avaliando o valor nutricional de silagem de cana-de-açúcar. Os menores valores encontrados neste trabalho podem estar relacionados ao elevado conteúdo de FDN da silagem de cana-de-açúcar (676,6 g/kg MS; Tabela 1) superior à utilizada por Lopes et al. (2007) que foi de 588,1 g/kg MS.

A baixa ingestão voluntária pode ser atribuída ao FDN da silagem de cana-de-açúcar, que apresentou baixa qualidade da fibra, podendo ser comprovado através do coeficiente de digestibilidade aparente da FDNcp no trato digestivo total de (0,3854 g/g) (Tabela 6) que provavelmente, influenciou na taxa de passagem da digesta.

A qualidade da dieta e/ou o aproveitamento dos compostos nutricionais da dieta podem ser influenciados por uma série de fatores, entre eles o teor e qualidade da fibra em detergente neutro (FDN). Apesar do conteúdo de FDN da silagem de cana-de-açúcar (676,6 g/kg MS – Tabela 1) ser inferior em comparação a outras forrageiras, a exemplo do capim elefante (0,747 g/g; Valadares Filho et al., 2002), a FDN da cana-de-açúcar apresenta baixa taxa de degradação (respectivamente, 0,021 h⁻¹; CRUZ et al., 2010) e digestibilidade (respectivamente, 0,3713 g/g; LOPES et al., 2007), o que

resulta em reduzida taxa de passagem, e, conseqüentemente, redução na ingestão de MS, em função da limitação provocada pelo enchimento do retículo-rúmen.

No entanto, o teor de FDN da forragem não deve ser considerado como único limitante para consumo de forragens. Fatores como a composição química da FDN (conteúdo e tipo de lignina e sua interação físico-química com os demais componentes), dimensão das frações potencialmente degradável (FDN_{pd}) e indegradável (FDN_i), tamanho inicial, densidade e fragilidade das partículas, bem como a atividade da microbiota ruminal devem ser considerados por afetar diretamente os parâmetros das dinâmicas de degradação e trânsito pelo trato digestório, os quais modulam os efeitos da FDN sobre o consumo e digestão de nutrientes (LUND et al., 2007; PAULINO et al., 2006;).

Fontes com o mesmo teor de FDN podem apresentar respostas diferentes, da mesma forma que fontes com maior teor de FDN não necessariamente implicam em respostas mais negativas sobre o consumo e a digestão. Sendo assim, para avaliação dos efeitos da FDN sobre o consumo e a digestibilidade da dieta, discriminações devem ser feitas quanto à natureza e características das fontes. O grupo de forrageiras, diferenças entre espécies, maturidade, condições climáticas, etc, implicam variações no teor e nas características químicas e físicas da FDN (OLIVEIRA et al., 2011).

A inclusão de GB em até 108 g/kg de MS na silagem de cana-de-açúcar não afetou ($P>0,05$) os coeficientes de digestibilidade aparente da MS, MO, FDN_{cp}, CNF, PB, EE (Tabela 6). Os valores médios observados para os coeficientes de digestibilidade aparente da MS, MO, FDN_{cp}, PB, CNF, e EE foram respectivamente 0,4469; 0,4605; 0,3854; 0,7984; 0,7225 e 0,5429 g/g.

Tabela 6. Coeficientes de digestibilidade aparente de fatores nutricionais em cordeiros alimentados com silagem de cana-de-açúcar associados com níveis de glicerina bruta

| Digestibilidade | Nível de glicerina bruta (g/kg MS) | | | | | EPM ⁴ ± | Equação de regressão |
|--------------------------------------|------------------------------------|------|------|------|------|-----------------------|----------------------|
| | 0 | 28 | 55 | 82 | 108 | | |
| Matéria seca (g/g) | 0,51 | 0,45 | 0,50 | 0,43 | 0,39 | 0,02 | $\hat{Y} = 0,45$ |
| Matéria orgânica (g/g) | 0,48 | 0,39 | 0,47 | 0,34 | 0,60 | 0,03 | $\hat{Y} = 0,46$ |
| FDN _{cp} ¹ (g/g) | 0,42 | 0,32 | 0,45 | 0,33 | 0,41 | 0,03 | $\hat{Y} = 0,39$ |
| CNF ² (g/g) | 0,74 | 0,73 | 0,74 | 0,69 | 0,74 | 0,01 | $\hat{Y} = 0,72$ |

| | | | | | | | |
|------------------------|------|------|------|------|------|------|------------------|
| Proteína bruta (g/g) | 0,83 | 0,79 | 0,82 | 0,78 | 0,77 | 0,01 | $\hat{Y} = 0,80$ |
| Extrato etéreo (g/g) | 0,40 | 0,45 | 0,55 | 0,49 | 0,70 | 0,04 | $\hat{Y} = 0,54$ |
| NDT ³ (g/g) | 0,54 | 0,56 | 0,61 | 0,50 | 0,50 | 0,02 | $\hat{Y} = 0,54$ |

⁽¹⁾FDNcp: fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína; ⁽²⁾CNF: carboidratos não fibrosos; ⁽³⁾NDT: nutrientes digestíveis totais; ⁽⁴⁾EPM: erro padrão da média; * $\alpha = 0,05$ de probabilidade para erro tipo I.

Os valores médios observados para os coeficientes de digestibilidade aparente da FDNcp e MS pelos animais alimentados a base de silagem de cana-de-açúcar (0,39 e 0,45 g/g) foram respectivamente inferiores (0,44 e 0,54 g/g) aos relatados por Andrade et al. (2001), utilizando silagem de cana-de-açúcar com uréia na dieta de ovinos.

A limitação da digestibilidade da FDNcp da cana-de-açúcar é uma característica reconhecida desta forrageira, relacionada ao seu conteúdo de lignina (74 g/kg; Cruz et al., 2010), cujo arranjo aglutina a celulose e hemicelulose, dificulta o acesso das enzimas microbianas aos pontos em que é possível a ruptura do polímero celulósico, devido ao fato das ligações químicas com a lignina fazerem com que a celulose e a hemicelulose percam suas propriedades higroscópicas (ZEOULA et al., 1995).

Alguns estudos têm sugerido que a glicerina pode afetar negativamente no metabolismo proteico. Adicionando 50, 100, 200 ou 300 mM de glicerina ao meio de cultura, Paggi et al. (1999) observaram redução de até 20% da atividade proteolítica em comparação ao meio sem glicerina. No entanto, os níveis de GB utilizados não afetou a digestibilidade da PB.

O valor médio observado para o coeficiente de digestibilidade da PB foi superior (0,80 g/g; Tabela 6) ao relatado por Lopes et al. (2007) utilizando silagem de cana-de-açúcar pura (0,28 g/g), o que se explica pela fonte de nitrogênio utilizada neste trabalho, a ureia, ser de elevada digestibilidade. De acordo com NRC (2001), um dos fatores que afetam a digestibilidade da PB é a quantidade de PB consumida. Como as dietas avaliadas neste experimento continham a mesma fonte proteica e em quantidades semelhantes, não foi observada diferença na digestibilidade da PB entre as mesmas.

Não houve efeito significativo ($P > 0,05$) dos níveis de GB sobre o N (g/animal/dia) consumido, fecal, urinário e retido. A observação de efeitos não

significativos ($P>0,05$) dos níveis 0, 28, 55, 82 e 108 g/kg de MS de silagem de cana-de-açúcar sobre a ingestão de N (6,04 g/dia), a excreção fecal (1,14 g/dia) e urinária (2,83), resultando em balanço positivo de N (2,06 g/dia) respectivamente (Tabela 7), leva a inferir que houve equilíbrio e sincronia de degradação das fontes proteicas e energéticas das dietas, uma vez que a relação proteína:energia não afetou a retenção de nitrogênio.

Tabela 7. Valores médios diários do balanço de nitrogênio em cordeiros alimentados com silagem de cana-de-açúcar associados com níveis de glicerina bruta.

| Nitrogênio | Nível de glicerina bruta (g/kg MS) | | | | | EPM ¹ ± | Equação de regressão |
|-------------------|------------------------------------|------|------|------|------|-----------------------|----------------------|
| | 0 | 28 | 55 | 82 | 108 | | |
| Consumido (g/dia) | 6,51 | 6,55 | 6,46 | 5,72 | 4,95 | 0,42 | $\hat{Y} = 6,04$ |
| Fecal (g/dia) | 1,08 | 1,22 | 1,16 | 1,22 | 1,02 | 0,07 | $\hat{Y} = 1,14$ |
| Urinário (g/dia) | 3,33 | 2,80 | 2,48 | 2,60 | 2,96 | 0,20 | $\hat{Y} = 2,83$ |
| Retido (g/dia) | 2,09 | 2,53 | 2,83 | 1,92 | 0,96 | 0,42 | $\hat{Y} = 2,06$ |

¹EPM: erro padrão da média; * $\alpha = 0,05$ de probabilidade para o erro tipo I.

De acordo com Donkin (2008) apesar de o glicerol não ser carboidrato, o mesmo é rapidamente fermentado no rúmen a ácidos graxos de cadeia curta, de modo que 50 a 70% do glicerol desaparecem do rúmen em 4 horas, levando a um aumento principalmente na produção de propionato. O aumento de glicerol com a inclusão dos níveis de GB provavelmente não afetou o crescimento das bactérias e consequentemente a retenção de N, visto que, quando se elevou a quantidade de GB, não foram observadas diferenças na quantidade de N retido ($P>0,05$).

A observação de efeito não significativo ($P>0,05$) dos níveis de GB sobre o consumo de MS (Tabela 5) e a semelhança na concentração de PB entre as dietas (Tabela 2) podem explicar o efeito não significativo ($P>0,05$) na quantidade de N consumido.

O melhor aproveitamento de N na forma de amônia pelos microrganismos no rúmen exige disponibilidade de energia em velocidade similar, dando suporte ao crescimento microbiano. A sincronização da degradação das fontes energéticas e proteicas da dieta afetam diretamente o crescimento microbiano e consequentemente o aproveitamento destes componentes. Situações nas quais o aporte de energia ou a taxa

de degradação dos carboidratos excede a disponibilidade de N ruminal, a produção de massa microbiana decresce acentuadamente, sendo o calor o principal produto do catabolismo (NOCEK & RUSSEL, 1988). Por outro lado, quando o suprimento de energia é limitante, as bactérias não utilizam eficientemente a fonte protéica, e neste caso grande parte do N dietético será perdida na forma de amônia, absorvida pela parede ruminal e eliminada como ureia pela urina.

A observação de efeito não significativo ($P>0,05$) dos níveis de GB sobre a excreção urinária e fecal de N provavelmente não afetou o metabolismo proteico no rúmen. Os animais alimentados à base de silagem de cana-de-açúcar apresentaram excreção de N via urinária (2,83 g/dia) superior à excreção fecal (1,14 g/dia) (Tabela 7).

A proporção dos carboidratos fibrosos em relação aos carboidratos não fibrosos na silagem de cana-de-açúcar (676,6 e 234,7 g/kg de MS), respectivamente, (Tabela 1) podem ter contribuído para menor aproveitamento do nitrogênio no rúmen, uma vez que a fonte proteica utilizada à ureia apresenta elevada liberação de N na forma de amônia, levando a grande absorção deste composto pela parede ruminal, elevando a excreção de ureia e, conseqüentemente, a perda de N via urinária.

4.4 Conclusão

A utilização de glicerina bruta em até 108 g/kg MS pode ser fonte alternativa de energia para ruminantes recebendo silagem de cana-de-açúcar já que não afeta os parâmetros cinéticos de fermentação ruminal, o consumo e a digestibilidade dos nutrientes, além do balanço de compostos nitrogenados.

CAPÍTULO II

GLICERINA BRUTA ASSOCIADA À SILAGEM DE SORGO EM DIETAS PARA CORDEIROS

5.1 Introdução

A produção e a qualidade das forrageiras utilizadas para pastejo de animais ruminantes apresentam flutuação ao longo do ano nas regiões de clima tropical, devido à estacionalidade de produção. Sendo assim, a utilização de silagens como volumoso suplementar, constitui uma opção para manutenção de bons índices produtivos nos períodos de menor oferta de forragem.

A alimentação representa cerca de 65 a 70% dos custos de produção de cordeiros, sendo considerado o componente de maior custo (SUSIN & MENDES, 2007). Dessa forma a adoção de práticas de manejo que possibilitem reduções nos custos, como o uso de alimentos energéticos alternativos que apresentem valor nutritivo adequado, disponibilidade e custo inferior aos alimentos convencionais como o milho, cujo preço oscila em função do mercado internacional, pode ser uma importante ferramenta para sustentabilidade econômica na produção de ruminantes.

Dentre os coprodutos gerados na cadeia produtiva do biodiesel, com potencial de utilização na alimentação de ruminantes, destaca-se a glicerina bruta (GB). A GB vem sendo estudada como ingrediente energético alternativo ao milho apresentando viabilidade bioeconômica em dietas para ovinos (LAGE et al., 2010). O uso da GB como ingrediente energético é justificado pelo fato do seu principal componente ser uma molécula gliconeogênica, o glicerol.

A simulação do ambiente ruminal e da digestão microbiana através da técnica semiautomática de produção dos gases *in vitro* permitem a descrição da cinética de fermentação ruminal. O conhecimento das taxas de degradação das frações de carboidratos fibrosos e não fibrosos é útil para formulação de dietas que permitam sincronia entre a utilização de fontes energéticas e proteicas, refletindo diretamente no desempenho dos animais. A técnica ainda prevê informações sobre a extensão da digestão dos alimentos, às quais relacionam-se diretamente ao potencial de aproveitamento dos compostos nutricionais pelos animais sob determinada condição.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar os efeitos de diferentes os níveis de GB sobre a cinética de fermentação ruminal *in vitro*, a cinética de degradação *in vitro* da fibra detergente neutro (FDN), consumo e digestibilidade da matéria seca e fatores nutricionais e balanço de compostos nitrogenados em cordeiros.

5.2 Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Alimentação de Ruminantes (LaPNAR) do Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais, na Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus-Ba, durante os meses de março a junho de 2012. A utilização dos animais nos experimentos foi autorizada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Santa Cruz, sob o Protocolo nº 033, 034 e 035/2010.

O híbrido de sorgo BRS 655 foi plantado para ser utilizado na produção da silagem na Fazenda Almada – UESC, localizada no município de Ilhéus-Ba. O solo apresentava as seguintes características químicas: matéria orgânica (MO) 15,62 g/kg, pH em H_2O_5 , 2, fósforo 2,03 mg/dm³, potássio 0,09 cmolc/dm³ e saturação de base (V) 55%. Adotou-se o espaçamento de 0,20 entre plantas e 0,80 metros entre linhas, obtendo produção estimada de 35,01 toneladas de MN/ha. O plantio teve início no dia (04/11/2011) e a colheita no dia (10/02/2012).

O processo de ensilagem foi realizado nos dias 15 e 16/01/2012. No processo de picagem do sorgo, utilizou-se ensiladora mecânica para que o tamanho das partículas ficassem aproximadamente com 2 cm. Foram utilizados 50 tonéis com capacidade de 120 kg como silo. A compactação do material foi feita com pisoteio da forragem e os tonéis foram vedados com tampas plásticas e anilha de metal de vedação.

Após a abertura de dez silos foram coletadas amostras simples da silagem, posteriormente foram feitas amostras compostas, pré-secas em estufas de circulação forçada de ar em temperatura de 55°C por 72 horas e moídas a 1mm para serem utilizadas nas incubações.

Antes de iniciar as incubações, as amostras da silagem foram submetidas às análises de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), matéria mineral (MM) de acordo com AOAC (1990). Para análise de fibra detergente neutro (FDN), as amostras foram tratadas com alfa-amilase termoestável, sem o uso de sulfato de sódio e corrigidas para cinzas residuais (MERTENS, 1992) e compostos nitrogenados conforme as recomendado por Licitra et al., 1996. Nas análises de FDN utilizou-se sacos de tecido-não-tecido (TNT, 100 g/m²) (CASALI et al., 2009), com

dimensões de 5 cm x 5 cm, na proporção de 20 mg MS/cm² de área superficial do saco (NOCEK, 1988).

O conteúdo de lignina foi obtido por meio da solubilização da celulose pelo ácido sulfúrico (VAN SOEST & ROBERTSON, 1985). O conteúdo de carboidratos não fibrosos (CNF), expresso em % na MS, foi calculado de acordo com Hall (2000) como: $100 - (\% \text{FDN} + \% \text{PB} + \% \text{EE} + \% \text{MM})$.

A composição química média da silagem de sorgo e glicerina bruta utilizada nas incubações encontra-se na Tabela 8.

Tabela 8. Composição química da silagem de sorgo e glicerina bruta utilizada no experimento

| Item | Silagem de sorgo | Glicerina bruta |
|------------------------------|------------------|-----------------|
| Matéria seca (g/kg) | 252,3 | 800,0 |
| Matéria mineral (g/kg MS) | 51,2 | 35,0 |
| Proteína bruta (g/kg MS) | 58,1 | - |
| FDNcp ¹ (g/kg MS) | 472,7 | - |
| Lignina (g/kg MS) | 46,2 | - |
| Extrato etéreo (g/kg MS) | 36,2 | 125,0 |
| CNF ² (g/kg MS) | 381,7 | - |
| MSi ³ (g/g) | 0,2 | - |
| FDNi ⁴ (g/g) | 0,2 | - |
| FDAi ⁵ (g/g) | 0,1 | - |

⁽¹⁾FDNcp: fibra detergente neutro corrigida para cinzas e proteína. ⁽²⁾CNF: Carboidratos não fibrosos. ⁽³⁾MSi: matéria seca indigestível. ⁽⁴⁾FDNi: fibra detergente neutro indigestível. ⁽⁵⁾FDAi: fibra detergente ácido indigestível.

Para avaliação da cinética de fermentação utilizou-se a técnica de produção dos gases *in vitro* de acordo com o descrito por Maurício et al. (1999). Em frascos de 50 mL foi adicionado CO₂ e 0,3 g da amostra de silagem de sorgo, associadas com os níveis 0, 20, 40, 60 e 80 g de GB/ kg de MS da silagem de sorgo, com três réplicas para cada mistura. Além destes foram incluídos mais três frascos contendo apenas fluido ruminal e meio de cultura (saliva artificial), servindo como controle (branco). A produção dos gases destes últimos frascos foi descontada das obtidas nos frascos que continham amostras.

A cada frasco foi adicionado 28,125 mL de meio de cultura contendo minerais e tamponantes (THEODOROU et al., 1994). As soluções foram preparadas 2 horas antes da incubação e mantidas em banho-maria a 39°C.

O fluido ruminal utilizado nas inoculações foi composto pela mistura dos fluidos ruminais de dois bovinos sem raça definida, portadores de cânulas ruminais, mantidos em pasto de capim braquiária, com acesso livre a sal mineral e água. Os bovinos foram mantidos em jejum hídrico e alimentar nas 12 horas que antecederam a coleta do fluido.

Utilizou-se uma garrafa térmica pré-aquecida para transporte do fluido até o laboratório onde foi filtrado, através de camadas de gaze de algodão misturados nas mesmas proporções e saturados com CO₂, e mantido em banho-maria a 39°C. O fluido ruminal (3,125 mL) foi inoculado nos frascos contendo amostras e meio de cultura, vedados com tampas de borracha expansivas e mantidos em estufa (39°C) até o momento das leituras.

As leituras de pressão dos gases (psi, pressão por polegada quadrada) produzidos durante as fermentações foram realizadas às 0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 24, 28, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 108, 120 e 144 horas após o início da incubação, e mensuradas de forma semi automática por intermédio de um transdutor de pressão, com uma agulha acoplada a sua extremidade. As medidas de pressão obtidas foram ajustadas para o volume de gases conforme a equação estimada de Santos et al. (2010):

$$V = 0,04755 + 1,9754 \cdot p + 0,01407 \cdot p^2,$$

em que “V” é o volume dos gases (mL) e “p” é a pressão dos gases dentro dos frascos de fermentação (psi).

A cinética da produção cumulativa dos gases foi avaliada empregando-se o modelo logístico bicompartimental para a estimativa dos seus parâmetros (SCHOFIELD et al., 1994):

$$V(t) = (V_{cnf} / (1 + \exp(2 - 4 \cdot K_{dcnf} \cdot (T - L)))) + (V_{cf} / (1 + \exp(2 - 4 \cdot K_{dcf} \cdot (T - L)))),$$

em que $V(t)$ é o volume acumulado no tempo t ; V_{cnf} , o volume de gás oriundo da fração de rápida digestão ou dos carboidratos não fibrosos (CNF); K_{dcnf} (h^{-1}), a taxa de degradação da fração de rápida digestão ou dos (CNF); L , latência ou tempo de colonização em horas; T , o tempo (h); V_{cf} , o volume dos gases da fração de lenta degradação (B2); K_{dcf} (h^{-1}), taxa de degradação da fração B2. O volume máximo de produção dos gases (VT) foi obtido da seguinte forma: $V(t) = V_{cnf} + V_{cf}$.

Para avaliação da cinética de degradação da fibra detergente neutro (FDN) (técnica gravimétrica) utilizou-se o mesmo modelo de incubação descrito para produção dos gases *in vitro*, adotando os tempos de retirada dos frascos 0, 2, 4, 8, 12, 24, 48, 60, 72, 96, 120, 144 e 264 horas após incubação.

Os tratamentos foram constituídos de 0, 30, 60 e 90 g de GB/kg de MS de silagem de sorgo. Após a retirada dos frascos nos respectivos tempos, os mesmos foram armazenados a 2°C, posteriormente filtrados em cadinhos filtrantes de pesos conhecidos, previamente secos em estufa de 105°C por 18 horas. Os resíduos obtidos após secagem em estufa de 105°C por 24 horas foram pesados para obter as estimativas do desaparecimento da matéria seca (MS). Posteriormente, os resíduos obtidos foram lavados em solução de FDN por 50 minutos utilizando o equipamento Autoclave (0,5 kgf/cm², 111°C) de acordo com o procedimento de Pell & Schofield (1993), para determinação do desaparecimento da fração fibrosa.

Utilizou-se o modelo exponencial decrescente, corrigido para o período de latência descrito por Sampaio et al. (1995) para estimativa dos parâmetros:

$$Y = A - B * \exp(-c*t),$$

em que: Y é o resíduo da FDN no tempo t ; A , a fração potencialmente degradável da FDN; B , a fração insolúvel potencialmente degradável da FDN; \exp , a base dos logaritmos neperiano; c , a taxa de degradação da fração B por unidade de tempo (h^{-1}); e t , o tempo de incubação. Sendo que a fração indegradável (I) é igual a $100 - A$.

A matéria seca indigestível (MSi), fibra detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra detergente ácido indigestível (FDAi) da amostra da silagem de sorgo foi obtida após incubação *in vitro* durante 264 horas. Após a retirada dos frascos no respectivo tempo, os mesmos foram armazenados a 2°C, posteriormente filtrados em cadinhos filtrantes de pesos conhecidos, previamente secos em estufa de 105°C por 18 horas.

Os resíduos obtidos após secagem em estufa de 105°C por 24 horas foram lavados em água (40 °C) e posteriormente pesados para obter as estimativas da matéria seca indigestível (MSi). Posteriormente, os resíduos obtidos foram lavados em solução de FDN, para determinação da fibra detergente neutro indigestível (FDNi), e depois lavados em solução de FDA, para determinação da fibra detergente ácido (FDAi). Ambos procedimentos foram realizados em equipamento Autoclave (0,5 kgf/cm², 111°C, por 50 minutos) de acordo com o procedimento de Pell & Schofield (1993).

No experimento *in vivo*, os animais foram alojados em gaiolas metabólicas apropriadas, providas de cochos individuais para alimentos e mistura mineral, bebedouro e sistema de captação de fezes e urina. Antes de se iniciar o experimento, todos os animais foram pesados, identificados e tratados contra ecto e endoparasitas.

Foram utilizados cinco cordeiros machos, sem raça definida, com peso médio inicial de 22,83 ± 5,49 kg, distribuídos casualmente em um delineamento em quadrado latino 5x5, sendo cinco níveis de GB e cinco períodos de coleta, de acordo com o modelo matemático:

$$Y_{ij(k)} = m + P_i + A_j + t_k + \varepsilon_{ij(k)},$$

em que Y_{ij} = variável resposta; m = média geral; P_i = efeito do período i ; A_j = efeito da animal j ; t_k = efeito do tratamento k e $\varepsilon_{ij(k)}$ = erro experimental.

A cada animal ou unidade experimental destinou-se, casualmente, um dos cinco tratamentos, os quais foram constituídos por substituição de 0, 20, 40, 60 e 80 g/kg da matéria natural da silagem de sorgo, representando respectivamente, 0, 17, 35, 53 e 70 g de GB/kg de MS da silagem de sorgo (Tabela 9).

As dietas foram fornecidas duas vezes ao dia, permitindo-se sobras de 5 a 10% da MN e todos os animais experimentais receberam água a vontade. Utilizou-se a mistura uréia: sulfato de amônio (9:1) para ajustar o teor de proteína bruta (PB) 10%

na MS da dieta. Foram fornecidas 10 g mistura mineral/ kg MS da dieta/ animal diariamente em cochos separados.

Tabela 9. Proporção de ingredientes e composição química das dietas em função dos níveis de glicerina bruta.

| Composição | Nível de glicerina bruta (g/kg MS) | | | | |
|---|------------------------------------|-------|-------|-------|-------|
| | 0 | 17 | 35 | 53 | 70 |
| Ingrediente (g/kg MS) | | | | | |
| Silagem de sorgo | 978,6 | 961,3 | 944,0 | 926,3 | 908,9 |
| Glicerina bruta | 0,0 | 17,4 | 35,0 | 52,8 | 70,4 |
| Ureia | 12,8 | 12,5 | 12,3 | 12,1 | 11,9 |
| Suplemento mineral | 8,7 | 8,8 | 8,8 | 8,9 | 8,9 |
| Composição Química | | | | | |
| Matéria seca (g/kg) | 268,2 | 277,6 | 287,1 | 296,8 | 306,3 |
| Matéria orgânica (g/kg MS) | 928,5 | 912,1 | 895,6 | 878,9 | 862,4 |
| Proteína bruta (g/kg MS) | 92,6 | 90,9 | 89,3 | 87,7 | 86,0 |
| FDNcp ¹ (g/kg MS) | 462,7 | 454,5 | 446,2 | 437,9 | 429,6 |
| Carboidratos não fibrosos (g/kg MS) | 337,7 | 329,7 | 321,5 | 313,1 | 305 |
| Extrato etéreo (g/kg MS) | 35,5 | 37,0 | 38,6 | 40,2 | 41,8 |
| Fibra detergente ácido (g/kg MS) | 309,2 | 303,7 | 298,2 | 292,7 | 287,2 |
| Proteína insolúvel em detergente neutro (g/kg MS) | 12,7 | 12,5 | 12,2 | 12,0 | 11,8 |
| Proteína insolúvel em detergente ácido (g/kg MS) | 9,2 | 9,1 | 8,9 | 8,7 | 8,6 |
| Lignina (g/kg MS) | 45,2 | 44,4 | 43,6 | 42,8 | 42,0 |

⁽¹⁾ Composição (kg produto): Ca, 130-150 g; P, 65 g; Na, 130 g; Mg, 10g; S, 12 g; F, 650 mg; Mn, 3000 mg; Zn, 5000 mg; Co, 80 mg; Fe, 1000 mg; Se, 10 mg; I, 60 mg. ⁽²⁾ FDNcp = fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteínas.

A duração total do experimento foi de 105 dias. Cada período experimental foi composto por 21 dias, sendo 16 dias de adaptação e cinco dias de coleta total, durante os quais registraram-se o consumo de alimentos e a excreção total de fezes e urina. Foram coletadas amostras do alimento fornecido, sobras, fezes, congeladas à -20 °C para posterior secagem e análise química.

A coleta total de fezes foi realizada do 17º ao 21º dia utilizando bolsas coletoras de couro sintético. Após a coleta e pesagem das fezes, realizadas diariamente sempre às 08:00 e 17:00 h, foram retiradas amostras simples equivalentes a 5 a 10% do peso total excretado e no 21º dia foi feita amostra composta para realização das análises laboratoriais.

As amostras de urina foram obtidas de todos os cordeiros a partir de coleta total de urina em recipientes (baldes) no piso, contendo 100 mL de solução de ácido sulfúrico a 20% v/v, durante os cinco dias de coletas do experimento. Após o período de 24 horas, foi estimado volume total excretado, sendo as amostras simples homogeneizadas e congeladas a -20°C, sendo que no 21º dia realizaram-se as amostras compostas por unidade experimental para análise de nitrogênio total.

As amostras das silagens fornecidas, fezes e sobras foram pré-secas e processadas a 1 mm, e submetidas às análises de MS, PB, EE, MM, FDA, FDN, NIDN, NIDA conforme descrito anteriormente.

Os consumos da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteínas (FDNcp), extrato etéreo (EE), carboidratos não fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT), foram calculados a partir do conteúdo dos nutrientes no alimento ofertado descontando o conteúdo nas sobras e os coeficientes de digestibilidade aparente da MS, MO, FDNcp, EE e CNF foram estimados pelo método de coleta total de fezes. Para os cálculos de digestibilidade, adotou-se a fórmula:

$$\text{DAN g/g} = [(\text{NCON} - \text{NEXC})/\text{NCON}] \times 100,$$

em que: DAN = coeficiente de digestibilidade aparente do nutriente; NCON = quantidade do nutriente consumido, em gramas; e NEXC = quantidade do nutriente excretado em gramas. O consumo de MS e fatores nutricionais foi obtido pela diferença entre o alimento ofertado e a sobra no final do período de 24 horas.

O balanço dos compostos nitrogenados foi calculado pela diferença entre o nitrogênio ingerido (NI) e o nitrogênio excretado (urina e fezes). O NI e o nitrogênio excretado foram calculados pela quantidade de proteína ingerida ou excretada em 24 horas dividida por 6,25.

As análises estatísticas para avaliação da cinética da fermentação e degradação *in vitro* foram conduzidas segundo um delineamento inteiramente casualizado composto de três repetições. Já em relação ao ensaio *in vivo*, as análises estatísticas foram conduzidas segundo um delineamento quadrado latino, composto de cinco

repetições. Para as variáveis cujo teste F foi significativo, a interpretação estatística dos efeitos dos níveis de substituição da GB foi realizada por meio de análises de regressão.

Os critérios utilizados para escolha das equações foram o comportamento biológico, coeficiente de determinação (R^2/r^2), calculado como a relação entre a soma de quadrado de regressão e a soma de quadrado total, e a significância, para os parâmetros da regressão, obtida pelo teste T. Em todos os procedimentos estatísticos adotou-se o nível de 5% de probabilidade para o erro tipo I. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa estatístico SAS, atendendo todas as pressuposições relacionadas aos erros.

5.3 Resultados e Discussão

O volume e taxa de degradação dos carboidratos não fibrosos (V_{cnf} e K_{dcnf} , respectivamente) e tempo de latência (L) foram afetados significativamente ($P < 0,05$) pela inclusão dos níveis de GB na cinética de fermentação ruminal *in vitro* (Tabela 10).

Verificou-se efeito linear decrescente ($P < 0,05$) sobre o L com a inclusão de GB, observando um decréscimo de 0,013 h no L para cada 10 gramas de GB incluída na MS da silagem de sorgo. A inclusão dos níveis de GB favoreceu a colonização microbiana mais rapidamente na silagem de sorgo, reduzindo o L (Tabela 10), podendo estes efeitos serem atribuídos ao aumento da disponibilidade de energia para o crescimento microbiano, uma vez que a GB apresenta em média 3,2 Mcal de EM/ kg de MS (DONKIN, 2008).

A observação de efeito significativo ($P < 0,05$) para o L utilizando a silagem de sorgo leva a inferir que a inclusão de GB em até 80 g/kg MS não dificultou o acesso às células microbianas e provavelmente, não alterou o sítio de ação das celulasas dos microrganismos, assim como a afinidade pelo substrato.

Os resultados obtidos na incubação utilizando a silagem de sorgo divergem dos relatados na literatura, cuja inclusão de glicerol aumentou o tempo de latência (L) nas incubações *in vitro*, tanto para forragens quanto para grãos (PEREIRA et al., 2008;

LEE et al., 2011). A diferença nos resultados pode estar relacionada à fonte e a pureza da GB utilizada, cuja concentração de glicerol pode ser variável. Outro aspecto que deve ser considerado é a adaptação dos microrganismos a GB (KREHBIEL, 2008).

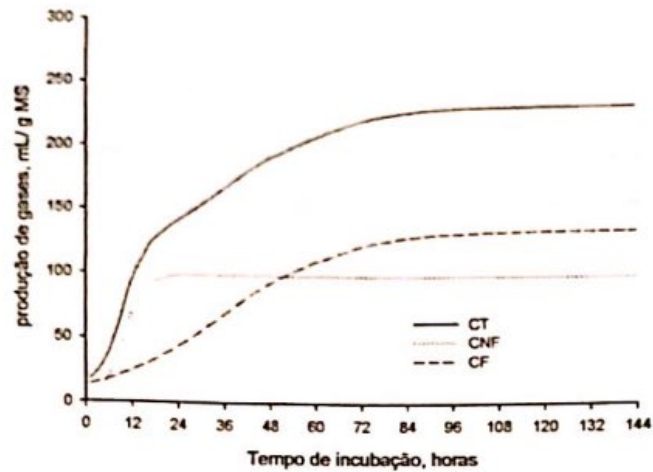
Neste trabalho a GB utilizada foi oriunda de resíduo de óleo de cozinha e sua pureza não foi avaliada e o fluido ruminal utilizado nas incubações foram obtidos de dois bovinos não adaptados à glicerina bruta.

Tabela 10. Estimativas dos parâmetros cinéticos de produção dos gases *in vitro* da silagem de sorgo com níveis de glicerina bruta, equações de regressão ajustadas e seus respectivos coeficientes de determinação

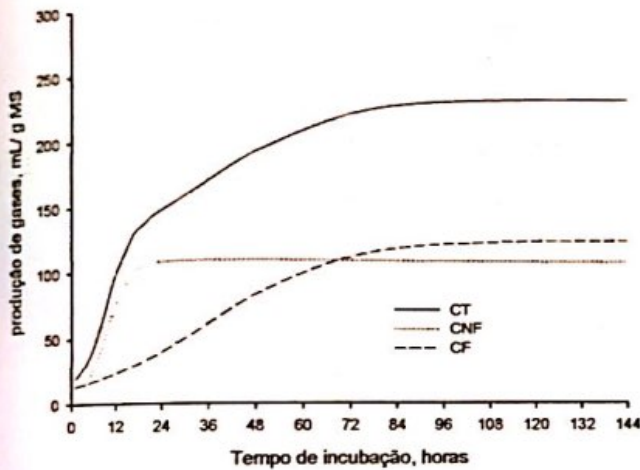
| Parâmetros | Nível de glicerina bruta (g/kg MS) | | | | | EPM ⁷ | Equação de regressão | R ² /r ² |
|---|------------------------------------|--------|--------|--------|--------|------------------|---|--------------------------------|
| | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | | | |
| Vcnf ¹ (mL.g ⁻¹) | 97,98 | 108,82 | 132,64 | 121,05 | 121,58 | 3,80 | $\hat{Y} = 96,51 + 10,979x - 1,0008x^2$ | 0,57 |
| Kdcnf ² (h ⁻¹) | 0,092 | 0,084 | 0,079 | 0,081 | 0,081 | 0,001 | $\hat{Y} = 0,092 - 0,0047x + 0,0004x^2$ | 0,67 |
| L ³ (h) | 4,11 | 3,47 | 4,20 | 3,57 | 3,07 | 0,12 | $\hat{Y} = 3,9985 - 0,013x$ | 0,49 |
| Vcf ⁴ (mL.g ⁻¹) | 134,57 | 125,86 | 126,63 | 119,48 | 123,49 | 2,24 | $\hat{Y} = 126,00$ | - |
| Kdcf ⁵ (h ⁻¹) | 0,016 | 0,015 | 0,015 | 0,014 | 0,015 | 0,00 | $\hat{Y} = 0,015$ | - |
| VT ⁶ (mL.g ⁻¹ MS) | 232,55 | 234,69 | 259,27 | 240,54 | 245,06 | 3,40 | $\hat{Y} = 242,42$ | - |

¹Vcnf= volume máximo de produção dos gases da fração dos CNF; ²kdcnf= taxa de digestão para a fração dos CNF; ³L= tempo de colonização; ⁴Vcf= volume máximo da produção de gases da fração dos CF; ⁵kdcf= taxa de digestão para a fração dos CF; ⁶VT= volume máximo de produção de gases dos carboidratos totais; ⁷EPM= erro padrão da média; * $\alpha = 0.05$ de probabilidade para erro tipo I.

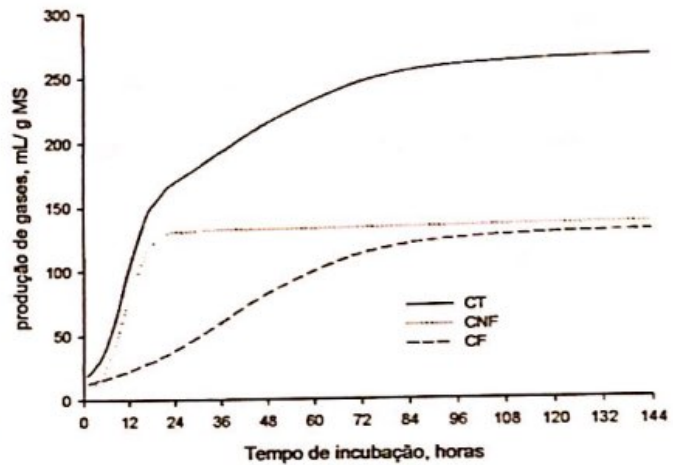
Para o volume dos gases produzidos a partir da fração dos carboidratos não fibrosos (Vcnf) a análise estatística revelou comportamento quadrático, sendo o volume máximo produzido (Vcnf = 126,62 mL/g MS) estimado para a inclusão de 54,85 g de GB/kg de MS, o que leva a inferir que a inclusão em até 54,85 g de GB/kg de MS da silagem de sorgo pode ser benéfica aos microrganismos fermentadores de carboidratos não fibrosos.



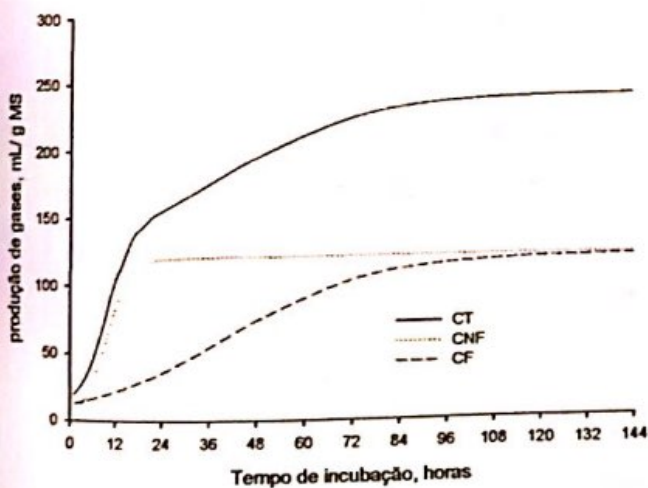
20 g de GB/kg de MS



40 g de GB/kg de MS



60 g de GB/kg de MS



80 g de GB/kg de MS

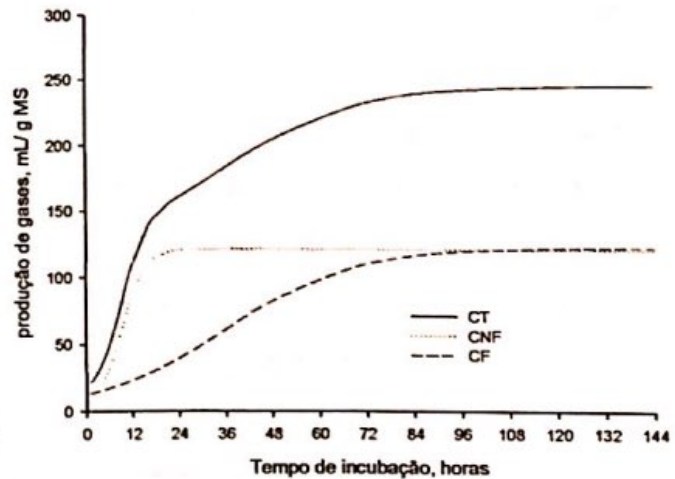


Figura 2. Produção acumulada dos gases da matéria seca (mL/g de MS) da silagem de sorgo com níveis de glicerina bruta.

Lee et al. (2011) incubaram glicerol, alfafa, milho, alfafa + glicerol e milho + glicerol, e verificaram que adição de glicerol reduziu a produção total dos gases tanto para o milho (224 mL/g) quanto para alfafa (147 mL/g) em comparação aos substratos incubados isoladamente (263 e 163 mL/g para o milho e alfafa, respectivamente). Os diferentes resultados observados no presente trabalho em comparação ao de Lee et al. (2011) podem estar relacionados à concentração de GB bruta utilizada, uma vez que a concentração máxima utilizada neste trabalho (80 g/kg MS) foi inferior aquela utilizada pelos autores (160 g/kg MS). Além disso, a diferença pode ser também devido à pureza da glicerina bruta utilizada nas pesquisas fora do Brasil ser diferente.

Verificou-se comportamento quadrático ($P < 0,05$) dos níveis de GB sobre a taxa de digestão dos carboidratos não fibrosos (kdcnf) utilizando a silagem de sorgo como substrato, sendo observada a taxa mínima (kdcnf = $0,0782 \cdot h^{-1}$) estimada para a inclusão de 58,75g de GB/kg de MS.

Não houve efeito significativo ($P > 0,05$) dos níveis de GB sobre a taxa de digestão (kdcf) e o volume de produção dos gases a partir da fração fibrosa (Vcf) utilizando a silagem de sorgo como substrato (Tabela 10). A baixa taxa de digestão da fração fibrosa (kdcf = $0,015 \cdot h^{-1}$) da silagem de sorgo pode estar relacionada à baixa digestibilidade *in vivo* da FDNcp (0,42 g/g) (Tabela 13).

A reduzida digestibilidade da FDN está relacionada ao conteúdo de lignina, cujo arranjo aglutina a celulose e hemicelulose. Esse complexo dificulta o acesso das enzimas microbianas aos pontos em que é possível a ruptura do polímero celulósico. Essa dificuldade se deve ao fato da perda das propriedades higroscópicas da celulose e hemicelulose, a partir das ligações químicas estabelecida com a lignina (ZEOULA et al., 1995).

Não houve efeito significativo ($P > 0,05$) dos níveis de GB sobre o (VT, mL.g⁻¹MS), sendo observado valor médio de 242,42 mL.g⁻¹MS respectivamente. A produção total dos gases observado utilizando a silagem de sorgo como substrato possivelmente está relacionada ao conteúdo de CNF, fato este comprovado pela composição química (Tabela 8).

Já em relação aos parâmetros ajustados da cinética de degradação da FDN *in vitro* da silagem de sorgo houve efeito significativo ($P < 0,05$) apenas para a fração

insolúvel potencialmente degradável da FDN (B), com um decréscimo de 0,996% na degradação para cada 10 g de GB/kg de MS (Tabela 11), o que leva a inferir que os microrganismos responsáveis por atuar sobre a fração B apresentaram maiores sensibilidades à inclusão dos níveis de GB (glicerol).

Não houve efeito significativo ($P>0,05$) dos níveis de GB sobre a fração potencialmente degradável da FDN (A), taxa de degradação da FDN (C) e fração indigestível da FDN (I) da silagem de sorgo, estimando-se valores médios 80,63%; 0,0343h⁻¹ e 19,35%, respectivamente (Tabela 11). Estas observações demonstraram que a inclusão de GB em até 90 g/kg de MS de silagem de sorgo não foi capaz de interferir sobre os microrganismos responsáveis por atuarem na fração potencialmente degradável da FDN (A), taxa de degradação da FDN (C) e fração indigestível da FDN (I) da silagem de sorgo.

Tabela 11. Parâmetros médios ajustados relativos à cinética de degradação *in vitro* da fibra detergente neutro da silagem de sorgo com níveis de glicerina bruta, equações de regressão ajustadas e seus respectivos coeficientes de determinação

| Parâmetros | Nível de glicerina bruta g/kg MS | | | | EPM ⁵ ± | Equação de regressão | R ² /r ² |
|------------------------------------|-------------------------------------|-------|-------|-------|-----------------------|----------------------|--------------------------------|
| | 0 | 30 | 60 | 90 | | | |
| A ¹ (%) | 80,17 | 80,56 | 81,29 | 80,57 | 0,21 | y = 80,64 | - |
| B ² (%) | 33,78 | 30,87 | 27,54 | 24,93 | 1,28 | y = 33,7636 - 0,996x | 0,96 |
| C ³ (/h ⁻¹) | 0,02 | 0,03 | 0,02 | 0,02 | 0,001 | y = 0,0343 | - |
| I ⁴ (%) | 19,83 | 19,44 | 18,71 | 19,43 | 0,21 | y = 19,35 | - |

⁽¹⁾A: degradação potencial da fração FDN; ⁽²⁾B: fração insolúvel potencialmente degradável; ⁽³⁾C: taxa de degradação da fração B por unidade de tempo; ⁽⁴⁾I: fração indegradável da FDN; ⁽⁵⁾EPM: erro padrão médio; * α = 0,05 de probabilidade para o erro tipo I.

Em relação ao ensaio *in vivo*, a inclusão de GB em até 70 g/kg MS na silagem de sorgo não afetou os consumos de MS e compostos nutricionais em cordeiros, o que pode ser confirmado pelo efeito não significativo ($P>0,05$) dos níveis de inclusão de GB sobre os consumos de MS, MO, FDNcp, PB, CNF, EE e NDT (Tabela 12). Os valores médios observados para os consumos de MS, MO FDNcp, PB, CNF, EE e NDT foram respectivamente 632,3; 563,7; 276,8; 56,9; 233,7; 24,80 e 383,7 g/dia (Tabela 12).

Tabela 12. Consumos de fatores nutricionais nutrientes e digestíveis totais (NDT), em cordeiros alimentados a base de silagem de sorgo e glicerina bruta

| Item | Nível de glicerina bruta (g/kg MS) | | | | | EPM ⁴ | Equação de regressão |
|---|------------------------------------|--------|--------|--------|--------|------------------|----------------------|
| | 0 | 17 | 33 | 55 | 70 | | |
| g/dia | | | | | | | |
| Matéria seca | 683,56 | 623,26 | 638,96 | 588,58 | 627,02 | 39,5 | $\hat{Y} = 632,3$ |
| Matéria orgânica | 634,80 | 567,66 | 570,40 | 513,74 | 532,12 | 36,7 | $\hat{Y} = 563,7$ |
| Proteína bruta | 63,74 | 56,60 | 58,16 | 52,30 | 54,00 | 3,8 | $\hat{Y} = 56,9$ |
| FDNcp ¹ | 312,12 | 277,58 | 279,56 | 250,78 | 264,14 | 16,1 | $\hat{Y} = 276,8$ |
| CNF ² | 262,00 | 235,60 | 235,10 | 213,90 | 222,00 | 16,9 | $\hat{Y} = 233,7$ |
| Extrato etéreo | 24,28 | 24,30 | 26,20 | 24,56 | 24,86 | 2,1 | $\hat{Y} = 24,80$ |
| NDT ³ | 434,90 | 381,00 | 392,50 | 347,80 | 362,20 | 33,5 | $\hat{Y} = 383,7$ |
| Matéria seca g/kg PC ⁵ | 28,55 | 26,52 | 26,44 | 26,43 | 26,62 | 1,3 | $\hat{Y} = 26,9$ |
| Matéria seca g/kg ^{0,75} | 63,04 | 58,22 | 58,39 | 57,28 | 58,46 | 3,0 | $\hat{Y} = 59,1$ |
| FDNcp ¹ g/kg PC ⁵ | 13,05 | 11,85 | 11,61 | 11,26 | 11,23 | 0,6 | $\hat{Y} = 11,8$ |
| FDNcp ¹ g/kg ^{0,75} | 28,79 | 25,99 | 25,62 | 24,41 | 24,66 | 1,2 | $\hat{Y} = 25,9$ |

⁽¹⁾FDNcp: fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteínas; ⁽²⁾CNF: carboidratos não fibrosos; ⁽³⁾NDT: nutrientes digestíveis totais. ⁽⁴⁾EMP: erro padrão da média; ⁽⁵⁾PC: peso corporal; * $\alpha = 0,05$ de probabilidade para erro tipo I.

O efeito não significativo ($P > 0,05$) dos níveis de GB sobre o consumo de MS e a proporção semelhante dos compostos nutricionais nas dietas (Tabela 9) podem explicar o efeito não significativo ($P > 0,05$) dos níveis de GB sobre os consumos de MO, FDNcp, PB, CNF, EE e NDT.

Lazzarini et al. (2009), ao utilizar dietas a base de forragem tropical de baixa qualidade para ruminantes combinadas a suplementação com compostos nitrogenados (ureia, sulfato de amônio e albumina), encontraram respostas máximas para o consumo de MS, MO e FDNcp (kg/dia) para níveis dietéticos de 108,3; 107,8 e 103,7 g de PB/kg MS, respectivamente. Em relação à digestibilidade da MO e FDN, os níveis de proteína bruta que apresentaram melhor resposta foram 79,3 e 75,5 g PB/kg MS, respectivamente.

Em relação às proporções de proteína bruta consumida pelos animais alimentados a base de silagem de sorgo (entre 88,87 a 93,24 g/kg MS) observaram-se valores inferiores aos recomendados por Lazzarini et al. (2009) para alcançar consumos máximos de MS, MO e FDNcp, e superiores aos níveis proteicos para obter melhor resposta em relação a digestibilidade MO e FDN.

Os efeitos não significativos ($P>0,05$) dos níveis de GB 17, 33, 55 e 70 g/kg de MS na silagem de sorgo sobre os consumos de MS e compostos nutricionais demonstram que os resultados observados estão mais associados com as características nutricionais da silagem de sorgo.

Souza et al. (2003) avaliaram o valor nutritivo de diferentes híbridos de sorgo de porte médio e alto, observaram valores para o consumo de MS $\text{g/kg}^{0,75}$ variando, entre 53,6 a 66,7 e para o consumo de FDN g/kg de PC variando, entre 12 a 16. No presente trabalho os valores médios do CMS e CFDNcp foram de 59,07 $\text{g/kg}^{0,75}$ e 11,8 g/kg do PC respectivamente, semelhantes aos relatados por Souza et al. (2003).

Machado et al. (2011) avaliaram o consumo e a digestibilidade aparente de três híbridos, BRS 610, BR 700 e BRS 655, colhidos em três estádios de maturação dos grãos, leitoso, pastoso e farináceo, e observaram valores médios para o consumo de MS entre 45,90 e 51,20 $\text{g/kg}^{0,75}$, para híbrido BRS 655, o mesmo utilizado neste trabalho. O valor médio obtido para o consumo de MS, 59,07 $\text{g/kg}^{0,75}$ foi superior ao observado por Machado et al. (2011). Tal fato pode ser explicado pela diferença na composição química das silagens. Neste trabalho a silagem de sorgo utilizada apresentou valores médios de 446,18 e 43,6 g/kg MS para FDNcp e lignina, respectivamente, inferiores aos observados por Machado et al. (2011) (629,5 e 58,5 g/kg MS, respectivamente).

A inclusão de GB em até 70 g/kg de MS na silagem de sorgo não afetou a proporção de MS e compostos nutricionais absorvidos pelo organismo dos animais, o que pode ser confirmado pelo efeito não significativo ($P>0,05$) dos níveis de GB sobre os coeficientes de digestibilidade aparente da MS, MO, FDNcp, CNF, PB, EE (Tabela 13). Os valores médios observados para os coeficientes de digestibilidade aparente da MS, MO, FDNcp, PB, CNF, e EE foram respectivamente (0,59; 0,57; 0,42; 0,56; 0,85 e 0,78 g/g (Tabela 13).

Tabela 13. Coeficientes de digestibilidade aparente de fatores nutricionais em cordeiros alimentados com silagem de sorgo associados com níveis de glicerina bruta

| Digestibilidade | Nível de glicerina bruta (g/kg MS) | | | | | EPM ⁴ ± | Equação de regressão |
|--------------------|------------------------------------|------|------|------|------|-----------------------|-------------------------|
| | 0 | 17 | 33 | 55 | 70 | | |
| Matéria seca (g/g) | 0,59 | 0,57 | 0,60 | 0,60 | 0,61 | 0,01 | $\hat{Y} = 0,59$ |

| | | | | | | | |
|--------------------------|------|------|------|------|------|------|------------------|
| Matéria orgânica (g/g) | 0,59 | 0,56 | 0,58 | 0,57 | 0,58 | 0,01 | $\hat{Y} = 0,57$ |
| FDNcp ¹ (g/g) | 0,44 | 0,43 | 0,42 | 0,43 | 0,39 | 0,02 | $\hat{Y} = 0,42$ |
| CNF ² (g/g) | 0,84 | 0,85 | 0,88 | 0,87 | 0,83 | 0,01 | $\hat{Y} = 0,85$ |
| Proteína bruta (g/g) | 0,61 | 0,50 | 0,54 | 0,52 | 0,60 | 0,02 | $\hat{Y} = 0,56$ |
| Extrato etéreo (g/g) | 0,80 | 0,79 | 0,76 | 0,78 | 0,79 | 0,02 | $\hat{Y} = 0,78$ |
| NDT ³ (g/g) | 0,66 | 0,64 | 0,63 | 0,62 | 0,58 | 0,01 | $\hat{Y} = 0,63$ |

¹FDNcp: fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína; ²CNF: carboidratos não fibrosos; ³NDT: nutrientes digestíveis totais; ⁴EPM: erro padrão da média; * $\alpha = 0,05$ de probabilidade para erro tipo I.

Os valores médios observados para os coeficientes de digestibilidade aparente da MS e MO foram respectivamente 0,59 e 0,57 g/g, dentro da faixa obtida por Souza et al. (2003), cujos valores variaram entre 0,50 e 0,64 g/g para digestibilidade da MS e, 0,53 e 0,65 g/g para a digestibilidade da MO, avaliando o valor nutritivo de silagens de diferentes híbridos de sorgo de porte médio e alto.

Os valores médios observados para os coeficientes de digestibilidade aparente da FDNcp e MS (0,42 e 0,59 g/g, respectivamente) apresentaram semelhantes aos observados por Machado et al. (2011) para o híbrido BRS 655, no estágio pastoso e farináceo (entre 0,43 e 0,39 g/g e 0,52 e 0,49 g/g) para os coeficientes de digestibilidade aparente da FDNcp e MS, respectivamente. O estágio de maturação na colheita, a composição química das silagens, condições climáticas, relação colmo:panícula das plantas e variações entre os animais experimentais, entre outros fatores, podem explicar as diferenças entre os resultados.

Alguns estudos têm sugerido que a glicerina pode afetar negativamente no metabolismo proteico. Adicionando 50, 100, 200 ou 300 mM de glicerina ao meio de cultura, Paggi et al. (1999) observaram redução de até 20% da atividade proteolítica em comparação ao meio sem glicerina. No entanto, os níveis de GB utilizados nas dietas a base de silagem de sorgo, não afetou a digestibilidade da PB.

No que se refere ao coeficiente de digestibilidade aparente da PB, observou-se um valor médio de (0,56 g/g; Tabela 13) superior ao relatado por Machado et al. (2011) para o híbrido BRS 655, variando entre 0,19 e 0,26 g/g utilizando sorgo ensilado em diferentes estágios de maturação como alimento exclusivo na dieta de ovinos. De acordo com NRC (2001), um dos fatores que afetam a digestibilidade da PB é a quantidade de PB consumida. Como as dietas avaliadas neste experimento

continham a mesma fonte proteica e em quantidades semelhantes, não foi observada diferença na digestibilidade da PB entre as mesmas.

Não houve efeito significativo ($P>0,05$) dos níveis de GB sobre o N (g/animal/dia) consumido, fecal, urinário e retido para os animais alimentados a base de sorgo (Tabela 14).

A observação de efeitos não significativos ($P>0,05$) dos níveis 0, 17, 33, 55 e 70 g/kg de MS de silagem de sorgo sobre a ingestão de N (9,11 g/dia), a excreção fecal (3,96 g/dia) e urinária (2,14), resultando em balanço positivo de N (3,01 g/dia) respectivamente (Tabela 14), leva a inferir que houve equilíbrio e sincronia de degradação das fontes proteicas e energéticas das dietas, uma vez que a relação proteína:energia não afetou a retenção de nitrogênio.

Tabela 14. Valores médios diários do balanço de nitrogênio em cordeiros alimentados com silagem de sorgo associados com níveis de glicerina bruta.

| Nitrogênio | Nível de glicerina bruta (g/kg MS) | | | | | EPM ¹ ± | Equação de regressão |
|-------------------|------------------------------------|------|------|------|------|-----------------------|----------------------|
| | 0 | 17 | 33 | 55 | 70 | | |
| Consumido (g/dia) | 10,20 | 9,05 | 9,31 | 8,36 | 8,64 | 0,62 | $\hat{Y}=9,11$ |
| Fecal (g/dia) | 3,76 | 4,31 | 4,17 | 3,96 | 3,60 | 0,26 | $\hat{Y}=3,96$ |
| Urinário (g/dia) | 2,54 | 2,20 | 1,97 | 2,12 | 1,87 | 0,16 | $\hat{Y}=2,14$ |
| Retido (g/dia) | 3,90 | 2,54 | 3,17 | 2,28 | 3,17 | 0,44 | $\hat{Y}=3,01$ |

¹EPM: erro padrão da média; * $\alpha=0,05$ de probabilidade para o erro tipo I.

De acordo com Donkin (2008) apesar de o glicerol não ser carboidrato, o mesmo é rapidamente fermentado no rúmen a ácidos graxos de cadeia curta, de modo que 50 a 70% do glicerol desaparecem do rúmen em 4 horas, levando a um aumento principalmente na produção de propionato. O aumento de glicerol com a inclusão dos níveis de GB, provavelmente, não afetou o crescimento das bactérias e consequentemente a retenção de N, visto que, quando se elevou a quantidade de GB, não foram observadas diferenças na quantidade de N retido ($P>0,05$).

A observação de efeito não significativo ($P>0,05$) dos níveis de GB sobre o consumo de MS (Tabela 12) e a semelhança na concentração de PB entre as dietas (Tabela 9) podem explicar o efeito não significativo ($P>0,05$) no balanço de N.

O melhor aproveitamento de N na forma de amônia pelos microrganismos no rúmen exige disponibilidade de energia em velocidade similar, dando suporte ao crescimento microbiano. A sincronização da degradação das fontes energéticas e proteicas da dieta afetam diretamente o crescimento microbiano e consequentemente, o aproveitamento destes componentes.

Situações nas quais o aporte de energia ou a taxa de degradação dos carboidratos excede a disponibilidade de N ruminal, a produção de massa microbiana decresce acentuadamente, sendo o calor o principal produto do catabolismo (NOCEK & RUSSEL, 1988). Por outro lado, quando o suprimento de energia é limitante, as bactérias não utilizam eficientemente a fonte proteica, e neste caso grande parte do N dietético será perdida na forma de amônia, absorvida pela parede ruminal e eliminada como ureia pela urina.

A presença do nitrogênio amoniacal no ambiente ruminal é fator essencial para os microrganismos do rúmen, especialmente os celulolíticos, que utilizam a amônia primariamente para seu crescimento, desde que esteja associada a uma fonte de energia adequada. Entretanto, quando há um desequilíbrio entre o N e a energia no rúmen, por deficiência energética ou excesso de proteína degradável no rúmen, a taxa de produção da amônia supera sua utilização pelos microrganismos ruminais, aumentando a sua concentração no rúmen, com consequente incremento na excreção dos compostos nitrogenados, por meio da produção de ureia, que envolve custo energético, além da perda de N e do valor biológico das proteínas (HUNTINGTON & ARCHIBEQUE, 1999). Para que estas perdas sejam reduzidas e que seja maximizado o crescimento microbiano, há necessidade de sincronização entre as taxas de degradação da proteína e dos carboidratos (RUSSELL et al., 1992).

Em relação a excreção de N via urinária (2,14 g/dia) não superou a excreção fecal (3,96 g/dia). Dois fatores podem ter influenciado este resultado, primeiro a fonte de nitrogênio predominante nas dietas à base de sorgo foi a proteína verdadeira com menor contribuição de uréia (Tabela 8), minimizando as perdas de amônia no rúmen, o segundo fator seria a presença de tanino no cultivar utilizado.

5.4 Conclusão

A utilização de glicerina bruta em entre 50 e 70 g/kg de MS em dietas a base de silagem de sorgo pode ser fonte alternativa de energia para cordeiros, já que nestas proporções proporciona maior produção dos gases oriunda da fração dos carboidratos não fibrosos, além de não afetar o consumo e a digestibilidade dos nutrientes, e o balanço de compostos nitrogenados.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, J.B.; JÚNIOR, E.F.; & BRAUN, Gl. Valor nutritivo da cana de açúcar tratada com hidróxido de sódio e acrescida com rolão de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, n. 10, p.1265-1268, 2001.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 16.ed. Washington, D.C.: 1990. 1094p.,
- BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de ruminantes**. Ed.2. Jaboticabal-SP: FUNEP, 2011, p. 616.
- 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**, vol. 8, n.4, 2005.
- CABRAL, L.S.; VALADARES FILHO, S. C.; MUNIZ, P.A.; MALAFAIA, R. D. P. L.; DA SILVA, J. F. C.; VIEIRA, R. A. M.; & PEREIRA, E. S. Frações de carboidratos de alimentos volumosos e suas taxas de degradação estimadas pela técnica de produção de gases. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.6, p.2087-2098 (Suplemento 1), 2000.
- CARDOSO, R.C.; VALADARES FILHO, S. C.; DA SILVA, J. F. C.; PAULINO, M. F.; VALADARES, R. F. D.; CECON, P. R.; COSTA, M. A. L.; DE OLIVEIRA, R. V. Síntese microbiana, pH e concentração de amônia ruminal e balanço de compostos nitrogenados, em novilhos F1 Limousin x Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29 n.6 pg.1844-1852, 2000.
- CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C.; PEREIRA, J. C.; CUNHA, M.; DETMANN, K. D. S. C.; & PAULINO, M. F. Estimação de teores de componentes fibrosos em alimentos para ruminantes em sacos de diferentes tecidos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.1, p.130-138, 2009.
- CAVALCANTE, M.A.B.; PEREIRA, O. G.; VALADARES FILHO, S. C.; RIBEIRO, K. G.; PACHECO, L. B. B.; ARAÚJO, D.; LEMOS, V. M. C. Níveis de proteína bruta em dietas para bovinos de corte: parâmetros ruminais, balanço de compostos nitrogenados e produção de proteína microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.1, p.203-210, 2006.
- COSTA, L.T. **Glicerina bruta na dieta de vacas lactantes confinadas**. 2011. 64p.Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2011.

- CRUZ, P. G.; DE FIGUEIREDO, M. P.; PEREIRA, L. G. R.; BERGAMASCHI, K. B.; RODRIGUES, C. S.; & DE SOUZA RECH, C. L. Fracionamento e cinética da fermentação ruminal in vitro dos carboidratos de cinco variedades de cana-de-açúcar. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.11, n. 4, p. 784-793, 2010.
- DONKIN, S. S.; KOSER, S. L.; WHITE, H. M.; DOANE, P. H.; & CECAVA, M. J. 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.
- DONKIN, S.S. Glicerol from biodiesel production : the new corn for dairy cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.280-286, 2008.
- DONKIN, S. S.; PALLATIN, M. R.; DOANE, P. H; CECAVA, M. J.; WHITE, H. M.; BARNES, E.; & KOSER, S. L. Performance of dairy cows fed glycerol as a primary feed ingredient. **Journal Animal Science**. v.90, n. 1111, p.350-359, 2007.
- ELAM, N.A.; ENG, K.S.; BECHTEL, B.; HARRIS, J. M.; & CROCKER, R. Glycerol from Biodiesel Production: Considerations for feedlot diets. **Proceeding of the Southwest Nutrition Conference**. Feb, v.21, 2008.
- FÁVARO, V. R. **Utilização de glicerina, subproduto do biodiesel, na alimentação de bovinos**. 2010, 59p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2010.
- FERRARO, S.M.; MENDOZA, G.D.; MIRANDA, L.A.; GUTIÉRREZ, C. G. In vitro gas production and ruminal fermentation of glycerol, propylene glycol and molasses. **Animal Feed Science Technology**. v.154, p.112-118, 2009.
- GENTIL, R.S.; PIRES, A.V.; SUSIN, I.; NUSSIO, L.G.; MENDES, C.Q.; MOURÃO, G.B. Digestibilidade aparente de dietas contendo silagem de cana-de-açúcar tratada com aditivo químico ou microbiano para cordeiros. **Acta Scientiarum Animal Science**, v.29, n.1, p.63-69, 2007.
- HALL, M.B. **Calculation of non-structural carbohydrate content of feeds that contain non-protein nitrogen**. University of Florida. (Bulletin 339, April-2000) p.A-25. 2000.
- HARMEYER, J.; MARTENS, H. Aspects of urea metabolism with reference to the goat. **Journal Dairy Science**, v.63, p.1707-1728, 1980.
- HENRIQUE, W.; SAMPAIO, A. A. M.; LEME, P. R.; ALLEONI, G. F.; LANNA, D. P. D.; MALHEIROS, E. B. Digestibilidade e Balanço de Nitrogênio em Ovinos Alimentados à Base de Dietas com Elevado Teor de Concentrado e Níveis Crescentes de Polpa Cítrica Peletizada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.2007-2015, 2003.

HUNTINGTON, G.B.; ARCHIBEQUE, S.L. Practical aspects of urea e ammonia metabolism in ruminants. In: AMERICAN SOCIETY OF ANIMAL SCIENCE, 1999. Carolina do North: **Proceedings...** Carolina do North: North Carolina State University, 1999.

KERR, B.J.; HONEYMAN, M.; LAMMERS, P. 2007. **Feeding bioenergy coproducts to swine**. Crude glycerol. Iowa State University Anim. Ind. Disponível em: <http://www.ans.iastate.edu>. Acesso em 10 de outubro, 2012.

KREHBIEL, C.R. Ruminant and physiological metabolism of glycerol. **Journal of Animal Science**. E-suppl. v.2, p.392 (Abstr). 2008.

LAGE, J.F.; PAULINO, P.V.R.; PEREIRA, L.G.R.; VALADARES FILHO, S.C.; DE OLIVEIRA, A.S.; DETMANN, E.; SOUZA, N.K.P.; LIMA, J.C.M. Glicerina bruta na dieta de cordeiros terminados em confinamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, n.9, p.1012-1020, 2010.

LANZAS, C.; SNIFFEN, C.J.; SEO, S.; TEDESCHI, L.O.; FOX, D.G. A revised CNCPS feed carbohydrate fractionation scheme for formulating rations for ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v. 136, p.167-190, 2007.

LAZZARINI, I.; DETMANN, E.; SAMPAIO, C.B.; PAULINO, M. F.; VALADARES FILHO, S.D.C.; SOUZA, M.A.D.; & OLIVEIRA, F.A. Intake and digestibility in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.10, p.2021-2030, 2009.

LAVEZZO, O.E.N.; LAVEZZO, W.; BURINI, R.C. Efeitos nutricionais da substituição parcial do farelo de soja, em dietas de ovinos. Comparação da digestibilidade aparente e balanço de nitrogênio com a cinética do metabolismo da n-glicina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.25, n.2, p.282-297, 1996.

LEE, S. Y.; LEE, S. M.; CHO, Y. B.; KAM, D. K.; LEE, S. C.; KIM, C. H.; & SEO, S. Glycerol as a feed supplementation for ruminants: In vitro fermentation characteristic and methane production. **Animal Feed Science and Technology**, v.166, p.269-274, 2011.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; VAN SOEST, P.J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.57, n.4, p.347-358, 1996.

LOPES, J.; EVANGELISTA, A.R.; & ROCHA, G.P. Valor nutricional da silagem de cana-de-açúcar acrescida de ureia e aditivos absorventes de umidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.36, n.4, p.1155-1161, 2007.

LOPES, J.; EVANGELISTA, A.R. Características bromatológicas, fermentativas e população de leveduras de silagens de cana-de-açúcar acrescidas de ureia e aditivos

absorventes de umidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.5, p.984-991, 2010.

LUND, P.; WEISBJERG, M. R.; & HVELPLUND, T. Digestible NDF is selectively retained in the rumen of dairy compared to indigestible NDF. **Animal Feed Science and Technology**, v.134, n.1, p.1-17, 2007.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. 2010. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 02 de novembro de 2012.

MAURÍCIO, R. M.; PEREIRA, L. G. R.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUEZ, N. M.; MARTINS, R.G.R.; RODRIGUES, J.A.S. Potencial da técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases para avaliação de silagens de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, p.1013-1020, 2003.

MAURICIO, R. M.; MOULD, F. L.; DHANOA, M. S.; OWEN, E.; CHANNA, K. S.; THEODOROU, M. K. A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. **Animal Feed Science and Thecnology**, v.79, n.4, p.321-330, 1999.

MACHADO, F.S.; RODRÍGUEZ, N.M.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUES, J.A. S.; RIBAS, M.N.; PÔSSAS, F.P.; & PEREIRA, L. G. R. Consumo e digestibilidade aparente de silagens de sorgo em diferentes estádios de maturação. **Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.6, p.1470 -1478, 2011.

MERTENS, D.R. Análise da fibra e sua utilização na avaliação de alimentos e formulação de rações. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE RUMINANTES, 1992, Lavras. **Anais...** Lavras: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1992. p.188-219.

MELLO, R.; NÖRNBERG, J.L.; QUEIROZ, A.C.; MIRANDA, E.N.; MAGALHÃES, A.L.R.; DAVID, D.B.; SARMENTO, J.L.R. Composição química, digestibilidade e cinética de degradação ruminal das silagens de híbridos de girassol em diferentes épocas de semeadura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1523-1534, 2006.

McDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S.J.E. **Biochemistry of silage**. 2. ed. Marlow: Chalcombe, 1991. 340 p.

MIZUBUTI, I. Y.; RIBEIRO, E.L.A.; ROCHA, M.A.; SILVA, L.D.F.; PINTO, A.P.; FERNANDES, W. C.; & ROLIM, M. A. Consumo e digestibilidade aparente das silagens de milho (*Zea mays* L.), sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) e girassol (*Helianthus annuus* L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, vol. 31, n.1, p.267-272, 2002.

MUCK, R.E. Factores influencing silage quality and their implications. **Journal Dairy Science**, v. 71, p. 2992-3002, 1988.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrients requirements of dairy cattle**. 7.rev.ed. Washington, D.C.: National Academic of Sciences, 2001. 381p.

NOCEK, J.E. In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility. A review. **Journal of Dairy Science**, v.71, n.8, p.2051-2069, 1988.

NOCEK, J.E.; RUSSELL, J.B. Protein and energy as an integrated system. relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. **Journal of Dairy Science**, v.71, n.8, p.2070-2107, 1988.

OLIVEIRA, A.S.D.; DETMANN, E.; CAMPOS, J.M.D.S.; PINA, D.D.S.; SOUZA, S. M.D.; & COSTA, M.G. Meta-análise do impacto da fibra em detergente neutro sobre o consumo, a digestibilidade e o desempenho de vacas leiteiras em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.7, p.1587-1595, 2011.

PAGGI, R.A.; FAY, J.P.; FERNÁNDEZ, H.M. Effect of short-chain acids and glycerol on the proteolytic activity of rumen fluid. **Animal feed science and technology**, v.78, n. 3, p. 341-347, 1999.

PAGGI, R. A.; FAY, J.P.; FAVERIN, C. In vitro ruminal digestibility of oat hay and cellulolytic activity in the presence of increasing concentrations of short-chain acids and glycerol. **Journal of Agricultural Science**, v.142, n.1, p.89-96, 2004.

PARSONS, G.L.; DROUILLARD, J.S. Effects of crude glycerin on ruminal metabolism and diet digestibility in flaked corn finishing diets. **Journal Animal Science**, v. 88(Suppl. 3): 96 (Abstr.), 2010.

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

PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. Suplementação animal em pasto: energética ou proteica. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 3., 2006, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: DZO-UFV, p.359-392, 2006.

PELL, A.N.; SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.9, p.1063-1073, 1993.

PEREIRA, L.G.R.; MAURÍCIO, R.M.; MENEZES, D.R.; GARCIA, G.; DE ARAÚJO, L.; SOUSA, L.F.; GUIMARÃES, R. Influência da glicerina bruta na cinética de fermentação ruminal *in vitro*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 45., 2008, Lavras. **Anais...** Lavras: Sociedade Brasileira de Zootecnia, [2008]. (CD-ROM).

- PESSOA, R. A. S.; LEÃO, M. I.; FERREIRA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D.; QUEIROZ, A.C. Balanço de compostos nitrogenados e produção de proteína microbiana em novilhas leiteiras alimentadas com palma forrageira, bagaço de cana-de açúcar e ureia associados a diferentes suplementos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, n.5, p.941-947, 2009.
- PYATT, N. A.; DOANE, P. H.; CECAVA, M.J. Effect of crude glycerin in finishing cattle diets. *Journal of Animal Science*, V.85, p.412, (E-Suppl.), 2007.
- PRADO, O.P.P.; ZEOULA, L.M.; GERON, L.J.V. Balanço de nitrogênio e digestibilidade da energia bruta de rações com diferentes teores de proteína degradável no rúmen e fonte de amido de alta degradabilidade ruminal em ovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. *Anais...* Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2004 (CD-ROM).
- RÉMOND, B.; SOUDAY, E.; JOUANY, J. P. In vitro and in vivo fermentation of glycerol by rumen microbes. *Animal Feed Science and Technology*, v.41, n.2, p. 121-132, 1993.
- RIVALDI, J.D.; SARROUH, B.F.; FIORILO, R.; SILVA, S.D. Glicerol de biodiesel: Estratégias biotecnológicas para o aproveitamento do glicerol gerado da produção de biodiesel. *Biotecnologia, Ciência e Tecnologia*, v.37, p.44-51, 2007.
- ROGER, V.; FONTY, G.; ANDRE, C.; GOUET, P. Effects of Glycerol on the Growth, Adhesion, and Cellulolytic Activity of Rumen Cellulolytic Bacteria and Anaerobic Fungi. *Current Microbiology*, New York, v. 25, n.4, p. 197-201, 1992.
- RUSSELL, J. B.; O'CONNOR, J. D.; FOX, D. G.; VAN SOEST, P. J.; SNIFFEN, C. J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. *Journal of Animal Science*, v.70, n.11, p.3551-3561, 1992.
- SANTOS, M.G.M.F.; AZEVÊDO, J.A.G.; PEREIRA, L.G.R.; SILVA, T.C.; CABRAL, I.S.; FARIAS, D.S. Relação entre pressão e volume para implantação da técnica *in vitro* de produção de gases no trópico úmido. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47ª, Salvador. *Anais*. 2010.
- SAMPAIO, I.B.M.; PIKE, D.J.; OWEN, E. Optimal design for studying dry matter degradation in the rumen. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.47, n.3, p.373-383, 1995.
- SCHOFIELD, P.; PITT, R. E.; PELL, A.N. Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. *Journal of Animal Science*, v.72, n.11, p. 2980-2991, 1994.
- SILVA, C.J.F.; LEÃO, M.I. **Fundamentos de nutrição de ruminantes**. Piracicaba: Livroceres, 1979.380p.

SOUZA, V.G.; PEREIRA, O.G.; DE MORAES, S.A.; GARCIA, R.; FILHO, S.D. C. V.; ZAGO, C.P.; FREITAS, E.V.V. Valor Nutritivo de Silagens de Sorgo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.3, p.753-759, 2003.

SUSIN, I.; MENDES, C.Q. Confinamento de cordeiros: uma visão crítica. In: Simpósio de Caprinos e Ovinos, II, 2007, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: EV-UFGM, 2007, p.123.

THEODOROU, M.K.; WILLIAMS, B.A.; DHANOA, M.S.; MCALLAN, A.B.; FRANCE, J. A simple gas production method using a pressure transducer to determine fermentation kinetics of ruminant feeds. **Animal Feed Science Technology**, v.48, n.3, p.185-197, 1994.

THOMPSON, J.C.; HE, B.B. Characterization of crude glycerol from biodiesel production from multiples feedstoks. **Applied Engineering in Agriculture**, v. 22, p. 261-265, 2006.

VALADARES FILHO, S.C. **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 297p.

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

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

ZEOULA, L.M.; FERELI, F.; PRADO, I.; GERON, L.J.V.; CALDAS NETO, S.F.; PRADO, O.; MAEDA, E.M. Digestibilidade e balanço de nitrogênio de rações com diferentes teores de proteína degradável no rúmen e milho moído como fonte de amido em ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.5, p.2179-2186, 2006.

ZEOULA, L.M.; BRANCO, A.; PRADO, I.; BORGES, I.; VALÉRIO, S.; AQUARONI, L. (1995). Consumo voluntário e digestibilidade aparente do caroço integral de algodão e bagaço hidrolisado da cana-de-açúcar para ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.24, n.1, p.38-48, 1995.