GLICERINA BRUTA NO SUPLEMENTO DE VACAS LACTANTES PRIMÍPARAS MANTIDAS EM PASTAGEM TROPICAL IRRIGADA

HERMÓGENES ALMEIDA DE SANTANA JÚNIOR

2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DE BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

GLICERINA BRUTA NO SUPLEMENTO DE VACAS LACTANTES PRIMÍPARAS MANTIDAS EM PASTAGEM TROPICAL IRRIGADA

Autor: Hermógenes Almeida de Santana Júnior
Orientador: Prof. Dr. Mauro Pereira de Figueiredo

ITAPETINGA
BAHIA - BRASIL
Julho de 2013

HERMÓGENES ALMEIDA DE SANTANA JÚNIOR

GLICERINA BRUTA NO SUPLEMENTO DE VACAS LACTANTES PRIMÍPARAS MANTIDAS EM PASTAGEM TROPICAL IRRIGADA

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

Orientador: Prof. Dr. Mauro Pereira de Figueiredo
Co-orientadora: Profª. Drª. Mara Lúcia Albuquerque Pereira

ITAPETINGA
BAHIA-BRASIL
Julho de 2013

636.085 Santana Júnior, Hermógenes Almeida de.

S223g Glicerina bruta no suplemento de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical irrigada. / Hermógenes Almeida de Santana Júnior. – Itapetinga-BA: UESB, 2013.
120f.

Tese do Programa de Pós-Graduação de Doutorado em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB - C*ampus* de Itapetinga. Sob a orientação do Prof. D.Sc. Mauro Pereira de Figueiredo e coorientação da Profa. D.Sc. Mara Lúcia Albuquerque Pereira.

1. Glicerina bruta - Vacas lactantes – Nutrição - Produção. 2. Glicerina bruta – Vacas lactantes – Comportamento ingestivo. 3. Glicerina bruta – Vacas – Ácidos graxos – Gordura do leite. 4. Bovinos leiteiros – Pastagem tropical - Suplemento. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Programa de Pós-Graduação de Doutorado em Zootecnia, C*ampus* de Itapetinga. II. Figueiredo, Mauro Pereira de. III. Pereira, Mara Lúcia Albuquerque. V. Título.

CDD(21): 636.085

Catalogação na Fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB 535-5ª Região

Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para desdobramentos por Assunto:

1. Glicerina bruta - Vacas lactantes – Nutrição - Produção
2. Glicerina bruta – Vacas lactantes – Comportamento ingestivo
3. Glicerina bruta – Vacas – Ácidos graxos – Gordura do leite
4. Bovinos leiteiros – Pastagem tropical - Suplemento

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA - UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
Área de Concentração: Produção de Ruminantes

Campus Itapetinga-*BA*

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: "Glicerina bruta no suplemento de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical irrigada".

Autor (a): Hermógenes Almeida Santana Jr.
Orientador (a): Prof. Dr. Mauro Pereira de Figueiredo
Co-orientador (a): Profª. Drª. Mara Lúcia Albuquerque Pereira

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PRODUÇÃO DE RUMINANTES, pela Banca Examinadora:

Prof. Dr. Mauro Pereira de Figueiredo - UESB

Profª. Drª. Mara Lúcia Albuquerque Pereira – UESB

Prof. Dr. Fábio Andrade Teixeira – UESB

Prof. Dr. Alyson Andrade Pinheiro – EMATER-GO

Prof. Dr. Laudí Cunha Leite – UFRB

Data de realização: 30 de julho de 2013.

CONFERE COM ORIGINAL
EM 31 / 07 / 13
PPG/UESB

Cleidiane de Souza Santos
Subgerente de Pesquisa
Cad. 72.438.483-9

“Cada pedra arremessada contra uma pessoa...
...poderá ser utilizada para elevar-se e maximizar o campo de visão”.
Autoria própria

“Mais tem o bem para dar, que o mal para tirar”.
Autor desconhecido

A Deus;

Aos pais;

Aos irmãos;

Aos sobrinhos;

Aos padrinhos;

À esposa.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

"Mesmo que passe o tempo e as distâncias sejam insuperáveis, jamais deixarei de lembrar daqueles que me ensinaram, auxiliaram, incentivaram e acreditaram na realização deste trabalho, por isso, MUITO OBRIGADO".

A Deus, sentido de tudo e força presente em todos os momentos;

Aos meus pais, Hermógenes Almeida de Santana e Maria Edilucia de Almeida, pelos incentivos e palavras de manutenção da autoestima;

Aos meus irmãos Ary e Arianne, pela torcida e orientações fornecidas. Idem aos cunhados;

Aos sobrinhos Cayan e Davi, por provocar reflexões sobre a bondade na inocência (Davi) e de conquistar o mundo (Cayan);

À esposa amada, Elizângela Santana, pela ajuda incondicional em todos os momentos da execução deste trabalho;

Aos meus padrinhos, Edson e Zui, pelas eternas palavras de incentivo;

Às avós, Joanita e França, que sempre me abençoaram e colocaram-me em suas orações;

Aos avôs, Luis Almeida (*in memorian*) e Paulo Santana, por ter deixado como legado a vontade de ver a produção animal no campo;

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), pela oportunidade de realizar este doutoramento;

Ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia, com concentração em Produção de Ruminantes, pela oportunidade, em mais uma etapa de aprimoramento profissional;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos;

Ao Prof. Dr. Mauro Pereira Figueiredo, pela orientação surpresa, mas embasada, organizada e alicerçada na ética;

À Profª. Drª. Mara Lúcia Albuquerque Pereira, pela co-orientação surpresa, entretanto, sempre esteve disposta a colaborar;

Aos Profs. Drs. Mauro Figueiredo, Mara Pereira, Fabiano Silva, Fábio Teixeira, Herymá Silva e Gleidson Carvalho, pelos ensinamentos transmitidos durante as disciplinas que cursei;

Aos Profs. Fabiano Ferreira da Silva, Mara Lúcia Albuquerque Pereira, José Augusto Gomes de Azevedo e Fábio Andrade Teixeira, pela participação no Exame Geral de Qualificação;

Aos membros da Banca de Defesa, Dra. Mara Lúcia Albuquerque Pereira, Dr. Alyson Andrade Pinheiro, Dr. Laudi Cunha Leite e Dr. Fábio Andrade Teixeira, pelas sugestões de aperfeiçoamento do manuscrito;

Aos irmãos da vida, Tanquinho, Cabeça e Jal, pelo direcionamento e ajuda, fundamental para minha formação profissional;

Ao grande amigo George Abreu Filho, que não mediu esforços para colaborar na execução do trabalho;

Aos amigos e colegas de pós-graduação, Cani, Caio, Tiago, Dionísio, Pablo, Ganso, Mateus, Viviane, Gisele, Jerúzia, Yann, Alexandro e Murilo, pela amizade;

Aos profs. Carmen Rech e José Luiz Rech, pela contribuição nas horas mais necessitadas;

A Hermógenes Santana, pela disponibilidade da propriedade Rancho Santana, assim como animais e instalações para condução da pesquisa;

Aos colaboradores diretos do experimento, Liz, Cabeça, Tanquinho, George, Mateus, Pablo, Yann, Jerúzia e Geane, que não mediram esforços para ajudar;

À Zé, Vera e João Paulo, pela ajuda nas análises químicas;

Aos colegas de trabalho, Fernando Araújo e Hosmylton Ferreira, por provocar reflexões científicas que refletiram na melhoria do trabalho;

A todos os colegas de doutorado, que contribuíram direta e indiretamente com o aprendizado;

A todos que contribuíram de alguma maneira para que eu chegasse até aqui...

...minha eterna gratidão!

BIOGRAFIA

Hermógenes Almeida de Santana Júnior, filho de Hermógenes Almeida de Santana e Maria Edilucia de Almeida, nasceu em 20 de março de 1986, em Jequié, Bahia.

Em julho de 2004, iniciou o curso de Zootecnia na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, finalizando em janeiro de 2010.

Em 05 de março de 2010, iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia do Programa de Pós-graduação em Zootecnia na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, finalizando em 23 de fevereiro de 2011.

Em 14 de março de 2011, iniciou o curso de Doutorado em Zootecnia do Programa de Pós-graduação em Zootecnia na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, concentrando estudos em Produção e Nutrição de Ruminantes.

Em janeiro de 2012, foi aprovado em 1º lugar no Concurso Público para o cargo de Professor Efetivo da Universidade Estadual do Piauí, na área de Produção de Ruminantes, onde leciona as disciplinas Produção de Bovinos de Corte, Produção de Bovinos Leiteiros, Nutrição de Ruminantes e Análises de Alimentos.

Em 30 de julho de 2013, submeteu-se à defesa da presente Tese.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELA	IX
RESUMO	XI
ABSTRACT	XIII
I - REFERENCIAL TEÓRICO	15
1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Biodiesel	16
2.2 Utilização e composição da glicerina	17
2.3 Metabolização da glicerina pelos ruminantes	18
2.4 Características produtivas, nutricionais e metabólicas	20
2.5 Características comportamentais	25
2.6 Suplementação em pastagens	26
3 REFERÊNCIAS	28
II – OBJETIVOS GERAIS	34
III - CAPÍTULO I - GLICERINA BRUTA NO SUPLEMENTO DE VACAS PRIMÍPARAS LACTANTES MANTIDAS EM PASTAGEM TROPICAL: CARACTERÍSTICAS PRODUTIVAS E NUTRICIONAIS	35
Resumo	35
Abstract	36
Introdução	37
Material e Métodos	38
Resultados e Discussão	45
Conclusões	55
Referências	56
IV - CAPÍTULO II - GLICERINA BRUTA NO SUPLEMENTO DE VACAS PRIMÍPARAS LACTANTES MANTIDAS EM PASTAGEM TROPICAL: COMPORTAMENTO INGESTIVO	59
Resumo	59
Abstract	60
Introdução	61
Material e Métodos	62
Resultados e Discussão	70
Conclusões	77
Referências	78
V - CAPÍTULO III - GLICERINA BRUTA NO SUPLEMENTO DE VACAS PRIMÍPARAS LACTANTES MANTIDAS EM PASTAGEM TROPICAL: COMPOSIÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS DA GORDURA DO LEITE	82
Resumo	82
Abstract	84
Introdução	85
Material e Métodos	86

Resultados e Discussão..... 91
Conclusões..... 100
Referências..... 101
VI - CONCLUÕES FINAIS..... 106
VII - ANEXOS..... 107
Anexo A – Normas da Revista Brasileira de Zootecnia..... 107
Anexo B – Normas da Revista Semina: Ciências Agrárias..... 113
Anexo C – Normas da Revista Scientia Agricola..... 116

LISTA DE TABELAS

Página

TABELA 1. Composição de glicerina variando na pureza..... 20
TABELA 2. Temperatura média, precipitação total e irrigação total durante cada período e a média dos períodos..... 38
TABELA 3. Proporções dos ingredientes e composição bromatológicas do suplemento..... 39
TABELA 4. Média e desvio-padrão (DP) das características da forragem durante o período experimental..... 40
TABELA 5. Composição bromatológica de amostras da forragem coletada por meio do pastejo simulado nos respectivos períodos experimentais..... 42
TABELA 6. Composição físico-química da glicerina bruta 43
TABELA 7. Consumo diário de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento..... 46
TABELA 8. Digestibilidade aparente de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento..... 48
TABELA 9. Parâmetros produtivos de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento..... 50
TABELA 10. Composição do leite de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento..... 53
TABELA 11. Temperatura média, precipitação total e irrigação total durante cada período experimental e a média dos períodos..... 62
TABELA 12. Proporções dos ingredientes e composição bromatológica do suplemento..... 63
TABELA 13. Média e desvio-padrão (DP) das características da forragem durante o período experimental..... 64
TABELA 14. Consumo diário de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento..... 65
TABELA 15. Composição bromatológica de amostras da forragem coletada por meio do pastejo simulado nos respectivos períodos experimentais..... 66
TABELA 16. Composição físico-química da glicerina bruta..... 67
TABELA 17. Comportamento ingestivo de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento..... 71
TABELA 18. Períodos discretos do comportamento ingestivo de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento..... 72

TABELA 19. Aspectos dos bocados do comportamento ingestivo de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento..... 73
TABELA 20. Aspectos da ruminação do comportamento ingestivo de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento..... 75
TABELA 21. Eficiências do comportamento ingestivo de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento..... 76
TABELA 22. Proporções dos ingredientes e composição bromatológicas do suplemento..... 87
TABELA 23. Quantidade de ácidos graxos saturados, em mg/g de lipídios, no leite de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento..... 92
TABELA 24. Quantidade de ácidos graxos monoinsaturados, em mg/g de lipídios, no leite de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento..... 93
TABELA 25. Quantidade de ácidos graxos poli-insaturados, em mg/g de lipídios, no leite de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento 94
TABELA 26. Valores médios relativos aos somatórios de ácidos graxos, mg/g, no leite de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento..... 95
TABELA 27. Valores médios relativos aos índices de qualidade nutricional do leite de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento..... 96
TABELA 28. Valores médios relativos aos índices de atividade da enzima Δ^9-dessaturase no leite de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento..... 99

RESUMO

SANTANA JÚNIOR, Hermógenes Almeida. **Glicerina bruta no suplemento de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical irrigada**. Itapetinga, BA: UESB, 2013. 119p. Tese. (Doutorado em Zootecnia, Área de concentração em Produção de Ruminantes).*

Objetivou-se com este estudo avaliar o efeito dos níveis de glicerina bruta no suplemento sobre as características produtivas, nutricionais, metabólicas e comportamentais de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical irrigada. O experimento foi conduzido na fazenda Rancho Santana, situada em Jequié/BA, no período de 21 de dezembro de 2010 a 16 de março de 2011. Foram utilizadas 10 vacas lactantes ¾ Holandês x ¼ Gir Leiteiro, primíparas, com 109 ± 24 dias de lactação, idade média de 30 ± 6 meses e peso corporal médio de 426,2 ± 68,29 kg, sendo distribuídas em cinco tratamentos, utilizando o delineamento de quadrado latino cinco por cinco (5x5), sendo dois quadrados latinos simultâneos. Os tratamentos foram constituídos de níveis de inclusão de glicerina bruta (GB) no suplemento (0, 94, 191, 289, 389 g/kg, base matéria seca). Foram mensurados o consumo, digestibilidade aparente e a produção e composição do leite. A avaliação do comportamento foi realizada no 14º dia de cada período, sendo feitas observações a cada cinco minutos por um período de 24 horas. Os ésteres de ácidos graxos foram analisados por um cromatógrafo a gás Thermo Finnigan, modelo Trace-GC-Ultra. Os resultados foram analisados estatisticamente por meio de análises de variância e regressão a 0,05 de probabilidade. Com exceção do consumo de glicerol e extrato etéreo, as variáveis de consumo não apresentaram diferenças significativas (P>0,05) entre os níveis de glicerina bruta. Com exceção do coeficiente de digestibilidade do extrato etéreo, as digestibilidades aparentes foram semelhantes entre os tratamentos (P>0,05). O teor e a produção de gordura apresentaram efeito quadrático entre os tratamentos (P<0,05). Para os teores de proteína, lactose, sólidos totais, extrato seco desengordurado, relação gordura:proteína, nitrogênio ureico no leite e contagem de células somáticas, não foram observadas diferenças significativas (P>0,05) entre os tratamentos. Para os tempos de pastejo,

outras atividades, ruminação, alimentação no cocho, número de períodos de pastejo, outras atividades, ruminação e alimentação no cocho, assim como taxa de bocado, número de mastigações merícicas e tempo por bolo alimentar, e as eficiências de alimentação e ruminação, não foram verificadas diferenças entre os níveis de glicerina bruta no suplemento (P>0,05). Os ácidos graxos saturados da gordura do leite, caproico (6:0), caprílico (8:0), cáprico (10:0), láurico (12:0), pentadecanoíco (15:0) e esteárico (18:0) apresentaram efeitos com a inclusão da glicerina bruta no suplemento (P<0,05). Os ácidos graxos poli-insaturados não diferiram com a elevação no nível de GB no suplemento (P<0,05). Por meio da razão dos ácidos pró e antiaterogênicos, foram calculados os índices de aterogenicidade (IA) e trombogenicidade, observando-se diferença somente para o IA (P<0,05). Para vacas lactantes primíparas em pastagem tropical, pode incluir em até 389 g de glicerina bruta/kg do suplemento sem interferências produtivas, nutricionais, metabólicas e comportamentais, além de variáveis que expressam a qualidade do leite como CLA, relação do ômega 6 e 3, índice de trombogenicidade e a razão dos ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos. As concentrações dos ácidos graxos saturados e monoinsaturados modificaram com a inclusão de glicerina bruta no suplemento de vacas lactantes em pastagem tropical. Em virtude do custo do frete impactar na viabilidade de utilização de coprodutos, salienta-se a necessidade de verificação do funcionamento das indústrias próximas às propriedades, pois a maioria das plantas industriais do biodiesel encontra-se inativa.

PALAVRAS-CHAVE: ácidos graxos, biodiesel, comportamento ingestivo, glicerol, produção de leite.

---

*Orientador: Mauro Pereira de Figueiredo, Dr. UESB; e Co-orientadora: Mara Lúcia Albuquerque Pereira, Drª, UESB.

ABSTRACT

SANTANA JÚNIOR, Hermógenes Almeida. **Crude glycerin in supplement of primiparous lactating cows mantained under pasture irrigated tropical**. Itapetinga, BA: UESB, 2013. 119p. Thesis. (Doctorate in Animal Science, Concentration area in Ruminant Production)*

The objective of this study was to evaluate the effect of levels of crude glycerin supplementation on the productive characteristics, nutritional, metabolic and behavioral responses of lactating primiparous cows maintained on pasture irrigated tropical. The experiment was conducted at Rancho Santana farm, located in Jequié city, Bahia, Brazil, in the period from December 21, 2010 to March 16, 2011. Ten ¾ Holstein × ¼ Dairy Gyr lactating primiparous cows, with 109 ± 24 days of lactation and a mean age of 30 ± 6 months and mean body weight of 426.2 ± 68.29 kg were distributed into five treatments, using two simultaneous 5 x 5 latin squares. Treatments consisted of inclusion levels of crude glycerin (CG) in the supplement (0, 94, 191, 289, 389 g/kg dry matter basis). Intake, digestibility, milk production and composition were measured. The behavior evaluation was performed on the 14th day of each period, with observations every five minutes for a period of 24 hours. Esters of fatty acids were analyzed by a gas chromatograph Thermo Finnigan, model Trace GC-Ultra. Results were statistically analyzed by analysis of variance and regression at 0.05 probability. Except for the glycerol and ether extract intake, intake variables no significant differences were found between the levels of crude glycerin. Except for the digestibility of ether extract, all digestibility values were similar between treatments. The fat content and yield showed quadratic effect between treatments. No significant differences were observed for protein, lactose, total solids, nonfat dry extract, fat:protein ratio, milk urea nitrogen and somatic cell count between treatments. For the grazing time, other activities, rumination, feeding trough, the number of grazing periods, other activities, rumination and feeding trough, as well as bit rate, number and time of chews per bolus, and efficiencies of eating and ruminating were not significant differences among crude glycerin levels in the supplement (P>0.05). Saturated fatty acids of milk fat, caproic

(6:0), caprylic (8:0), capric (10:0), lauric (12:0), pentadecanoic (15:0) and stearic (18:0) showed effects with the inclusion of crude glycerin in the supplement (P<.05). Polyunsaturated fatty acids did not differ with the rise in the level of CG in the supplement (P<0.05). As the ratio of acids pro and antiatherogenic indexes were calculated atherogenicity (IA) and thrombogenicity, observing only difference for the IA (P<0.05). For primiparous lactating cows grazing tropical can include up to 389 g of crude glycerin/kg supplement without interference productive, nutritional, metabolic and behavioral, as well as variables that express the quality of milk as CLA, omega 6 and 3 ratio, index of thrombogenicity and reason hypocholesterolemic fatty acids and hypercholesterolemia. The concentrations of saturated and monounsaturated fatty acids modified with the inclusion of crude glycerin supplementation in lactating cows grazing tropical. Because the freight cost impact on the viability of using coproducts, highlight the need for checking the operation of the properties nearby industries, as most biodiesel plants is inactive.

KEYWORDS: fatty acids, biodiesel, ingestive behavior, glycerol, milk production

.

---

*Adviser: Mauro Pereira de Figueiredo, Dr. UESB and Co-adviser: Mara Lúcia Albuquerque Pereira, Drª, UESB.

I - REFERENCIAL TEÓRICO

1 INTRODUÇÃO

O biodiesel é um biocombustível oriundo de óleos vegetais ou gorduras animais que foi recentemente (13 de janeiro de 2005) introduzido na matriz energética brasileira (ANP, 2010). O caráter renovável torna este produto uma fonte importante de energia em longo prazo. O biodiesel não contém petróleo, mas pode ser adicionado a ele formando uma mistura. Segundo a ANP (2010), ele pode ser usado em motores de ignição à compressão (diesel) sem necessidade de modificação dos motores. Como trata-se de uma energia limpa, não poluente, o seu uso em motor diesel convencional resulta, quando comparado com a queima do diesel mineral, em uma redução substancial de monóxido de carbono e de hidrocarbonetos não queimados.

A glicerina é um coproduto da fabricação de biodiesel, cuja composição é a base de glicerol ou propano-1,2,3-triol (IUPAC, 1993), que é um composto orgânico pertencente à função álcool (ARRUDA et al., 2007). É líquido à temperatura ambiente (25 °C), higroscópico, inodoro, viscoso e de sabor adocicado. O nome origina-se da palavra grega *glykos* (γλυκός), que significa doce. Portanto, se a glicerina for purificada, ocorre uma elevação dos níveis de glicerol (entre 980 e 995g/ kg de glicerina), no qual esse coproduto pode ser denominado de glicerol.

O aumento da produtividade leiteira tem sido um dos principais objetivos de produtores especializados e nutricionistas, pois depende de fatores genéticos, sanitários, ambientais e nutricionais. Nesse sentido, o bom manejo nutricional é importante para que os animais expressem seu potencial, aumentando a resposta produtiva por unidade de uso de nutrientes (LANA, 2007).

O uso da glicerina na alimentação animal pode ser uma maneira de aumentar a eficiência biológica e financeira da produção de biodiesel (ZACARONI, 2010).

A possibilidade de integração da pecuária com a produção de biodiesel enseja o estudo da utilização deste coproduto na alimentação de ruminantes, visando aumentar a produtividade animal, gerando menor emissão de gases de efeito estufa, delineando-se como uma perspectiva positiva.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Biodiesel

A denominação biodiesel pode ser utilizada para qualquer combustível obtido a partir de fonte renovável, de origem animal ou vegetal, que substitua o óleo de petróleo nos motores de ciclo diesel (FELICIANO FILHO & PEREIRA JR., 2007).

O biodiesel é fabricado através de um processo químico chamado transesterificação, no qual a glicerina é separada da gordura ou do óleo vegetal. A produção e o uso do biodiesel no Brasil propiciam o desenvolvimento de uma fonte energética sustentável sob os aspectos ambiental, econômico e social e também traz a perspectiva da redução das importações de óleo diesel. Em 2008, o uso do biodiesel evitou a importação de 1,1 bilhões de litros de diesel de petróleo resultando numa economia de cerca de US$ 976 milhões, gerando divisas para o país.

O Brasil está entre os maiores produtores e consumidores de biodiesel do mundo, com uma produção anual, em 2009, de 1,6 bilhões de litros (ANP, 2010). O percentual de adição de biodiesel ao óleo diesel está em contínua elevação, pois através da Lei 11.097/2005, no ano de 2008, o Governo Federal definiu que o biodiesel fosse obrigatoriamente adicionado ao diesel do petróleo num percentual de 2%, o chamado B2. Desde 1° de julho de 2009, todo óleo diesel comercializado no Brasil contem 4% de biodiesel, programa B4 e atualmente a adição é de 5% (ANP, 2010).

Entretanto, o grande volume de glicerina gerado através da reação de transesterificação pode prejudicar o aspecto ecológico do biodiesel. Estima-se que, com a adição de 4%, o excedente de glicerina no mercado foi de aproximadamente 264 mil toneladas/ano, e com a adição de 5%, chegará a 325 mil toneladas/ano (MOTA et al., 2009).

O Brasil apresenta inúmeras oleaginosas com potencial para a produção de biodiesel, devido a sua diversidade climática e de ecossistemas. As principais oleaginosas cultiváveis no Brasil, que poderiam ser utilizadas para a fabricação de biodiesel, são a soja (*Glycine max*), o girassol (*Helianthus annuus*), a mamona (*Ricinus communis*), o dendê (*Elaeis guineensis*), o pinhão-manso (*Jatropha curcas*), o nabo forrageiro (*Raphanus sativus*), o algodão (*Gossypium spp. L.*), o amendoim (*Arachis*

hypogaea), a canola (*Brassica napus*), o gergelim (*Sesamum arientale*), o babaçu (*Orrbignya speciosa*) e a macaúba (*Acrocomia aculeata*) (Storck Biodiesel, 2008; BiodieselBr.com, 2008; Petrobio, 2005).

Devido à alta viscosidade do óleo obtido, o fluxo deste no motor torna-se mais lento, sendo necessária a retirada da glicerina do óleo vegetal para a redução da viscosidade. A remoção da glicerina é realizada principalmente pelo processo de transesterificação, no qual o óleo vegetal reage com um álcool (metanol ou etanol) na presença de um catalisador (podendo ser acido, básico ou biológico). O resultado dessa reação e um éster mono alquilado (biodiesel) e seu principal coproduto é a glicerina (PLÁ, 2002).

A partir do total de biodiesel produzido, para cada kg de biodiesel produz 92 g de glicerina (DONKIN et al., 2009). Sendo assim, este novo patamar de produção de glicerina é bastante superior à quantidade empregada atualmente nas principais aplicações comerciais já citadas, demandando a criação de novas aplicações para este produto. Sem isso, o excesso de glicerina poderá tornar-se um problema principalmente no que se refere ao ambiente, já que o programa para produção de biodiesel não define de forma clara e segura o destino que deve ser dado aos coprodutos. Neste sentido, seu uso como ingrediente na dieta de ruminantes desponta como importante alternativa, uma vez que, além da sua contribuição nutricional, o custo da glicerina obtida da produção de biodiesel encontra-se entre 0,2 a 0,4 R$/kg (RIVALDI et al., 2008).

2.2 Utilização e composição da glicerina

Atualmente a glicerina é utilizada principalmente na indústria química para síntese de resinas e ésteres (18%), na indústria farmacêutica (7%), em cosméticos (40%), uso alimentício como umectante e conservante, no preparo de molho para salada, coberturas de doces e sobremesas geladas (24%) e outros (11%). Entretanto, o excesso de produção de glicerina do biodiesel excederá a atual capacidade de utilização das indústrias químicas e farmacêuticas nos próximos anos (DONKIN, 2008).

O glicerol é um composto triálcool de alto conteúdo energético, sendo um eventual substituto do milho e outros concentrados energéticos ricos em carboidratos não fibrosos na alimentação animal (DEFRAIN et al., 2004; SELLER, 2008; DONKIN

et al., 2009). O glicerol está presente em todos os óleos e gorduras de origem animal e vegetal em sua forma combinada, ou seja, ligado a ácidos graxos, tais como o ácido esteárico, oleico, palmítico e láurico para formar a molécula de triacilglicerol.

2.3 Metabolização da glicerina pelos ruminantes

O glicerol é um substrato fermentável no rúmen e um precursor gliconeogênico via metabolismo hepático. Dentro do rúmen, o glicerol pode seguir duas rotas metabólicas: a primeira, envolve a absorção direta pelo epitélio da parede ruminal (RÉMOND et al., 1993) e, a segunda, a fermentação em ácidos graxos voláteis (AGV) pelas bactérias ruminais, principalmente o ácido propiônico (DONKIN, 2008).

Após chegar ao fígado, através da corrente sanguínea, tanto o glicerol como o propionato, este último o principal precursor da glicose, são transformados nesta hexose por meio da rota metabólica gluconeogênica.

Segundo Donkin (2008), o glicerol não é um carboidrato, porém, é 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 na produção de propionato, isso ocorre através das bactérias anaeróbicas que fermentam o glicerol como *Selenomonas ruminantium* (produtoras de propionato), portanto, outros produtos da fermentação também são liberados como o lactato, succinato e acetato.

Krehbiel (2008) relata que, aproximadamente, 13% de glicerol que chega ao rúmen desaparece por passagem com a digesta, 44% por fermentação e 43% por absorção pela parede.

A glicerina é geralmente reconhecida como segura para uso em alimentos para animais (FDA, 21 C.F.R. 582,1320, 2006), porém, as impurezas podem desvalorizar a glicerina em níveis elevados, através dos resíduos do catalisador, sais e metanol que podem ser problemáticos na utilização de glicerol como ração animal.

A recente publicação do *Food and Drug Administration* no EUA indica que os níveis de metanol, superior a 150 ppm, podem ser considerados impróprios para a alimentação animal. Entretanto, níveis bem superiores foram estabelecidos na Alemanha, onde o limite máximo de 5000 ppm foi definido (SELLER, 2008).

Na literatura, verifica-se uma grande variação na composição da glicerina, o conteúdo de glicerol pode variar de 305 (PAIGE, 2009) a 900 g/kg de glicerina (POTU et al., 2009). Nos EUA, observou-se valores entre 100 ppm e 11500 ppm de metanol (DASARI, 2007). A matéria seca pode variar de 700 (SHIN et al., 2009) a 940 g/kg de glicerina (PAIGE, 2009).

Schroder & Sudekum (1999) analisaram a composição da glicerina obtida a partir do óleo de canola e verificaram a presença de 260 g de água por kg do coproduto. Na base da matéria seca, foram observados 633 g de glicerol, 267g de metanol, 33,6g de P, K e Na, 7,1g de extrato etéreo e 0,003g de proteína bruta por kg da glicerina.

A glicerina utilizada no estudo de DeFrain et al. (2004) foi obtida diretamente das usinas processadoras de biodiesel e apresentou 802 g de glicerol, 115 g de sais, 66g de água e 13g de metanol em sua composição por kg de glicerina. Embora o menor teor de metanol sugira ter havido, na própria indústria, algum tipo de processamento para diminuir esse tipo de contaminação, ela não foi eficaz, uma vez que 1,3%, ou seja 13.000 mg/kg, situa-se acima dos 150 mg/kg sugeridos pelos americanos FDA (2006) e dos limites superiores alemães.

Já a glicerina utilizada por Thompson et al. (2006), que é oriunda da produção de biodiesel de soja, indica um teor de glicerol de 762g, gordura de 798g, proteína de 5g e cinza de 27 g por kg de glicerina. O último sendo composta de 11 ppm Ca, 6,8 ppm Mg, 53 ppm P, e 12g Na/kg. Os teores de metanol encontrados foram de 234 a 375 g/kg de glicerina, indicando que não era uma glicerina recomendada para alimentação animal na condição do presente estudo.

Hansen et al. (2009) avaliaram a composição de 11 amostras de glicerina oriundas de sete plantas diferentes na Austrália e encontraram que o conteúdo de glicerol variou de 384 a 965 g/kg de glicerina e o de metanol variou de <00,1 a 139,4 g/kg de glicerina e a matéria seca entre 839 e 100 g/kg de glicerina.

Mesmo com a remoção do metanol, estarão misturados à glicerina outros compostos que poderão variar em função da matéria prima e catalisadores utilizados no processo. Considerando a possibilidade de utilizar a glicerina na dieta de ruminantes, torna-se imprescindível conhecer o produto em termos de sua composição qualitativa e quantitativa, visando definir a quantidade de seu fornecimento aos animais. Assim, além do conhecimento primário das concentrações médias de glicerol na glicerina, algumas

substâncias acompanhantes podem ser prejudiciais aos microrganismos do rúmen ou mesmo ao animal. Do ponto de vista econômico, a composição é importante também para definir as possibilidades de inserção do produto nas dietas dos ruminantes, considerando-se o preço a ser pago pela glicerina bruta. Com base nos dados publicados já existentes, Schroder & Sudekum (1999) classificaram a pureza da glicerina (Tabela 1).

Tabela 1. Composição de glicerina variando na pureza

	Pureza da glicerina		
	Baixa	Média	Alta
Umidade (g/kg de glicerina)	268	110	250
Glicerol (g/kg MS)	633	853	998
Extrato etéreo (g/kg MS)	7	4	n.a.[1]
P (g/kg MS)	10	24	n.a.[1]
K (g/kg MS)	22	23	n.a.[1]
Na (g/kg MS)	1,1	0,9	n.a.[1]
Proteína bruta (g/kg MS)	0,003	0,002	n.a.[1]
Metanol (g/kg MS)	267	0,4	n.a.[1]

[1] Não analisado.
Fonte: Schroder & Sudekum (1999).

2.4 Características produtivas, nutricionais e metabólicas

Kristensen & Raun (2007) forneceram 1088 g de glicerina (850 g de glicerol/ kg de glicerina), em dose diária única, via cânula ruminal em vacas, e observaram apenas 10% do glicerol na veia portal como consequência da absorção direta. Entretanto, como a quase totalidade desse glicerol absorvido foi transformado em glicose pelo fígado, os autores sugeriram que o glicerol não recuperado na veia portal havia sido fermentado no rúmen.

Independentemente do substrato absorvido (ácido propiônico ou glicerol), a maior parte do glicerol ingerido por ruminantes é convertida em glicose no fígado, o que faz dele um importante precursor desse nutriente energético. Schroeder & Sudekum

(1999) determinaram a energia líquida para lactação (ELL) do glicerol e chegaram aos valores de 2.300 Kcal/kg, quando oferecido em dietas pobres em amido, e entre 1.912 e 2.031 Kcal/kg, quando incorporado a dietas ricas em amido. Para comparação, a ELL do milho quebrado, moído e floculado é, segundo o NRC (2001), 1.912, 2.008 e 2.079 Kcal/kg, respectivamente, demonstrando, assim, uma similaridade entre o milho e o glicerol.

Por ser um composto que permite a gliconeogênese e, portanto, de alto valor energético, o glicerol, desde a década de 50, vem sendo utilizado no tratamento da cetose em vacas de alta produção. O interesse no uso do glicerol para vacas lactantes surgiu depois que Johnson (1954) conseguiu reverter o quadro de cetose nesses animais, fornecendo grandes quantidades de glicerol em um período de poucos dias.

DeFrain et al. (2004), avaliando a inclusão de glicerina com 802 g de glicerol/kg de glicerina (controle, 0,43 e 0,86 kg/dia) na dieta de vacas lactantes em confinamento, 21 dias antes do parto até 21 dias após o parto, observaram que não houve diferença entre o controle e os níveis de glicerina para produção e composição do leite, contagem de células somáticas, metabólitos sanguíneos (insulina, ácidos graxos não esterificados – AGNE e β-OH-butirato – BHB), lípídios e glicogênio no fígado, parâmetros ruminais (pH, nitrogênio amoniacal - NH_3, acetato, propionato, relação acetato:propionato etc). Entretanto, o fornecimento de glicerina dimuniu o consumo de matéria seca (MS) e concentração de glicose plasmática, e elevou a concentração ruminal de butirato.

Bodarski et al. (2005) observaram que a alimentação de 500 mL de glicerina (995 g/kg de glicerina), representando 31 g/ kg da MS da dieta em vacas lactantes com 70 dias pós-parto, proporcionou maior produção e teor de proteína do leite.

Ogborn (2006), avaliando a ingestão de MS em vacas Holandesas multíparas, testou a utilização de 500 mL de glicerina (995 g de glicerol/ kg glicerina) no período pré e pós-parto e verificou aumento do consumo de MS no período pré-parto e diminuição do período pós-parto.

Trabalhando com vacas Holandesas multíparas, alimentadas com glicerina sólida (produto comestível, 650 g glicerol/ kg glicerina), durante as três primeiras semanas de lactação, fornecendo 250 g/dia de glicerina sólida (162,5 g de glicerol) ou sem fornecimento, Chung et al. (2007) não encontraram nenhum efeito de tratamento sobre a

ingestão e conversão alimentar, produção e composição do leite e contagem de células somáticas.

Para os metabólitos sanguíneos (glicose, insulina, AGNE e BHB) e cetona urinária, foram encontrados valores semelhantes para o controle e glicerina.

Donkin & Doane (2007) avaliaram em vacas lactantes a resposta à dose de fornecimento de 0, 1,22; 2,45; 3,6 kg de glicerina/dia (995 g glicerol/kg glicerina) e verificaram que o consumo diminuiu a nível de 3,6 kg/dia de glicerina, durante os primeiros sete dias do experimento, porém, a produção e composição do leite não foram alterados.

Donkin et al. (2007), verificando a adição de glicerol em vacas Holandesas confinadas, verificaram que até 15 g de glicerol por kg da dieta não provoca efeitos deletérios sobre a produção e composição do leite.

Wang et al. (2008) avaliaram a utilização da glicerina com 998 g de glicerol/ kg glicerina (0, 100, 200 e 300 g de glicerol/dia) em vacas Holandesas em lactação, e não observaram efeito para o consumo de MS, produção leiteira e teor de lactose do leite, porém, houve um efeito linear decrescente no teor de proteína e gordura no leite, AGNE, ABHB e cetona na urina com a elevação do fornecimento de glicerol. Os autores também encontraram um aumento da concentração de glicose no plasma com a elevação do glicerol. A recomendação dos autores foi para utilização de 300 g de glicerol/dia.

Osborne et al. (2009), testando a glicerina diluída em água em vacas Holandesas, verificaram que, no período pós-parto, o tratamento com glicerina diluída na água (consumo esperado de 1600 g de glicerol/dia) obteve menor consumo de MS que o controle. Os mesmos autores não encontraram diferenças, no período pós-parto, tanto para a produção e composição do leite quanto para as concentrações plasmáticas de glicose (2,24 *vs.* 2,15 mmol/L) e ácidos graxos não esterificados (0,57 *vs.* 0,62 mmol/L) entre o tratamento controle e glicerina, respectivamente. Portanto, no período pós-parto, para o tratamento glicerina, a concentração de ácido beta-hidroxibutirato do plasma e cetona da urina foi superior ao controle.

Donkin et al. (2009), avaliando em sessenta vacas Holandesas confinadas o efeito da inclusão de zero, 50, 100 e 150 g de glicerina na MS da dieta (995g de glicerol/kg de glicerina), observaram que o consumo de MS, produção, contagem de

células somáticas e composição de leite, escore de condição corporal, produção microbiana e derivados de purinas foram semelhantes entre os tratamentos. Portanto, as digestibilidades aparentes da MS e a concentração de glicose no sangue elevaram-se linearmente com o aumento de glicerina na dieta. O nitrogênio ureico no leite (NUL) diminuiu com a elevação do glicerol. No mesmo estudo, não verificaram diferenças entre os tratamentos para a concentração de ácidos graxos voláteis (AGV, 119 mM), acetato (58,7%), propionato (23,3%), butirato (17,8%) e NH_3 (9,7 mg/dL). Portanto, recomendaram a inclusão de 15% de glicerina na dieta de vacas lactantes. Os autores também afirmam que a natureza dos efeitos de glicerol na digestibilidade total precisa ser mais explorada, em especial, para dietas em que a digestibilidade da fibra animal pode limitar o desempenho animal.

Shin et al. (2009) avaliaram a inclusão de glicerina com 900g de glicerol/kg de glicerina (0, 50 e 100 g de glicerina/kg da dieta), em 24 vacas em lactação, e observaram que a produção leiteira, glicose plasmática e pH ruminal não alteraram entre os tratamentos, recomendando então 10% de glicerina na dieta de vacas em lactação.

Rico et al. (2009) avaliaram a substituição do amido de milho ou melaço de cana por glicerina com 425g de glicerol/kg (42,9g/kg da dieta) em nove vacas holandesas, sendo que, para o consumo e a produção de leite, não apresentaram efeito entre os tratamentos.

Em estudo com seis vacas em lactação, Boyd et al. (2009) avaliaram a resposta da inclusão de glicerina com 995g de glicerol/kg (controle, 200 e 400 g de glicerina) e verificaram que houve uma queda no consumo e produção de leite com a inclusão da glicerina, quando comparado com o controle. Os autores também verificaram um aumento da proporção molar de propionato no líquido ruminal e diminuição do acetato com a inclusão de 400 g de glicerina, comparativamente ao controle.

Zacarani (2010), avaliando a inclusão de glicerina na dieta (controle e 123g/kg da MS da dieta) de dezoito vacas lactantes confinadas, observou que o consumo, composição do leite, escore de condição corporal, digestibilidade da MS e fibra em detergente neutro (FDN), proporção molar de propionato, pH, volume de urina e a concentração de alantoína não diferiram entre os tratamentos em estudo, mas houve diminuição da produção leiteira, porporção molar de acetato e concentração de glicose, e aumento de butirato com a inclusão de glicerina.

Observando os estudos citados anteriormente, salienta-se que, para nenhuma das variáveis, há uma simililaridade dos efeitos com a inclusão da glicerina, ressaltando que todas as pesquisas foram conduzidas com vacas lactantes confinadas, necessitando então elucidar os efeitos com animais em pastagem, tendo em vista que é o principal sistema de produção leiteira no Brasil.

Drackley (2008), em uma revisão feita sobre o uso de glicerol em dietas para vacas lactantes, sugeriu que pode participar em até 100g/kg da matéria seca da dieta sem prejuízos para o animal.

Coletivamente, essas experiências indicam que o glicerol pode ser adicionado em dietas para vacas em lactação sem efeitos deletérios. No entanto, o limite superior da inclusão de glicerol não foi elucidado.

Algumas pesquisas mostraram efeito indesejável do glicerol sobre a digestão ruminal das fibras, pois Roger et al.(1992) observaram que o uso de 50 g de glicerol na dieta inibiu a degradação da celulose pelos fungos do rúmen, e o uso acima de 20 g de glicerol/kg da dieta inibiu as bactérias ruminais. Já Paggi et al. (2004) estudaram o efeito de vários compostos na capacidade proteolítica do líquido ruminal de bovinos e constataram efeito negativo do glicerol sobre a digestibilidade *in vitro* da matéria seca e da carboximetilcelulose.

Os dois estudos acima mencionados foram realizados *in vitro* e seus resultados devem ser interpretados com cautela já que, nestas condições, a principal via de absorção do glicerol, diretamente através da parede do rúmen, não ocorre. Seguindo esse raciocínio, verifica-se que, nos experimentos com animais, não foi destacado a atenção para possíveis reduções na digestibilidade dos nutrientes.

O maior aporte de glicose decorrente do consumo de glicerol pode resultar em melhoria do aporte energético dos animais ou em maior produção de leite nos casos em que o potencial produtivo é limitado pela quantidade de energia disponível para o animal.

É fundamental mencionar que a maioria dos estudos acima foi conduzida com glicerina de alto grau de pureza (*Food Grade*). Para obter essa qualificação, a glicerina, coproduto da transesterificação dos óleos vegetais, passa por diferentes processos de refinamento, encarecendo o produto final. Na glicerina, as impurezas, tais como resíduos catalíticos, sais e álcool (etanol ou metanol), podem chegar a 250 g/kg da

matéria seca do produto (THOMPSON & HE, 2006), e representar, no caso do metanol, risco para quem manuseia o produto e para os animais que o consomem.

2.5 Características comportamentais

A produção animal em pastagem depende de fatores relacionados à planta e ao animal, portanto, a quantidade e a forma como a forragem é fornecida ao animal determina diferentes respostas no consumo e desempenho. Essas respostas podem ser obtidas com diferentes estratégias de pastejo, sendo utilizadas de acordo com a estrutura da pastagem (CARVALHO et al., 2001). O consumo de forragem por animais em pastejo é influenciado por três grupos de fatores: os que afetam o processo de digestão, os que afetam o processo de ingestão e aqueles que afetam os requerimentos nutricionais e a demanda por nutrientes (BERCHIELLI et al., 2006).

Um dos objetivos básicos de todo sistema de produção de bovinos em pastagem é cobrir as necessidades nutricionais dos animais durante todo o ano, mantendo uma oferta permanente de alimento em quantidade e qualidade suficientes, para obter ótima resposta produtiva por parte dos animais. Todavia, nas condições de pastagem, existem grandes variações na produção de matéria seca e na qualidade da pastagem, afetando negativamente a produtividade animal e promovendo alterações no comportamento animal (PARDO et al., 2003).

Para a eficiente exploração da pastagem, é necessário conhecer as relações existentes na interface planta-animal, que envolve o estudo de como as condições de pastejo interferem no comportamento ingestivo dos ruminantes e no seu desempenho, de forma a identificar condições de manejo adequadas à categoria animal e ao sistema de produção adotado (JOCHIMS et al., 2010).

O conhecimento do comportamento ingestivo dos animais, de acordo com a dieta fornecida, é de grande importância para avaliação de seu desempenho produtivo (MISSIO et al., 2010), pois variáveis comportamentais podem ser utilizadas para nortear a avaliação da dieta.

Em único estudo encontrado sobre o tema, a inclusão de glicerina na dieta (controle e 123g/kg da MS da dieta) sobre o comportamento ingestivo de dezoito vacas lactantes confinadas, Zacarani (2010) observou que o tempo de ruminação e mastigação

(ingestão + ruminação), bem como a eficiência de ruminação e mastigação não apresentaram diferenças, quando comparadas com o controle.

O tempo de ingestão foi superior para o controle (254 minutos) em relação ao tratamento glicerina (228 minutos), sendo que o autor também afirma que esse efeito porporcionou diferenças na eficiência de ingestão (12,6 *vs.* 14,2, para glicerina e controle, respectivamente).

2.6 Suplementação em pastagens

O Brasil apresenta praticamente, em todo seu território, características de clima tropical, conferindo condições favoráveis para a produção de leite sob pastagem. Com cerca de 30% do território nacional ocupados com pastagens, com potencial para produção animal, durante praticamente o ano todo, é natural que se produza leite em regime de pastagem (SANTOS et al., 2008).

A finalidade de qualquer sistema de produção animal é a obtenção do equilíbrio entre suprimento e demanda por alimentos. Para sistemas de produção envolvendo pastagens, essa afirmativa não poderia ser diferente, pois o pasto está devidamente inserido no sistema de produção como um dos principais fatores produtivos. Porém, um sistema de produção é muito mais complexo e dinâmico do que se possa parecer, existem diversos fatores fazendo parte desse sistema, que interagem entre si, tais como, solo, planta, clima, animais e o próprio homem.

É dentro desse contexto que devemos estabelecer sistemas de suprimento de alimentos, de modo a tornar a atividade da pecuária leiteira uma alternativa competitiva e interessante do ponto de vista econômico.

Sem soluções desse sistema, não será permitida uma produção com resultados líquidos satisfatórios. Para uma alta produção animal em pastagens, três condições básicas devem ser atendidas:

- Deve ser produzida uma grande quantidade de forragem de bom valor nutritivo, cuja distribuição estacional deve coincidir com a curva de exigências nutricionais dos animais;
- Uma grande proporção dessa forragem deve ser colhida pelos próprios animais (consumo);

- Eficiência de conversão dos animais deve ser elevada.

Animais leiteiros de alto mérito genético não conseguem obter na pastagem, mesmo que seja de boa qualidade, toda energia necessária para suportar o potencial produtivo que apresentam. A exploração racional e o total aproveitamento do pasto requerem o desenvolvimento de sistemas que maximizem a ingestão de forragem pela vaca e melhore a eficiência de uso dos nutrientes por meio do fornecimento de alimentos suplementares. A utilização correta da suplementação é um potente instrumento para aumentar a produtividade do sistema (BRANCO et al., 2002; SANTOS et al., 2008).

3. REFERÊNCIAS

ANP. **Agência Nacional do Petróleo**. 2010. Disponível em: <http://www.anp.gov.br>. Acesso em: 15 de Abril de 2011.

ARRUDA, P.V.; RODRIGUES, R.C.L.B.; FELIPE, M.G.A. Glicerol: um subproduto com grande capacidade industrial e metabólica. **Revista Analytica**, p.56-62, n.26, 2007.

BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2011. 616p.

BIODIESEL BR.COM. **Tudo sobre biodiesel**. Curitiba, 2008. Disponível em: <http://www.biodieselbr.com/biodiesel/biodiesel.htm>. Acesso em: 05 de maio de 2011.

BODARSKI, R. et al. The change of metabolic status and lactional performance in dairy cows under feeding tmr with glycerin (glycerol) supplement at periparturient period. **Eletronic Journal of Polish Agricultural Universities,** Animal Husbandry, v.8, p.1-9, 2005.

BOYD, J.; WEST, J.W.; BERNARD, J.K. Effects of increasing concentrations of dietary glycerol on ruminal environment and digestibility in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.92, n.1, p.88, Jan. 2009.

BRANCO A.F.; CECATO. U.; MOURO G.F. Avaliação técnico-econômica da suplementação de vacas leiteiras em pastagem. In: SANTOS G.T.; BRANCO A.F.; CECATO U.; et al. (Org.). **II Sul-Leite. Simpósio Sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil**. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2002, p.123-142.

CARVALHO, P.C.F. et al. Importância da estrutura da pastagem na ingestão e seleção de dietas pelo animal em pastejo. **A produção animal na visão dos brasileiros**. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 2001. p.853-871.

CEPEA - ESALQ/USP. **Receita compensa gasto extra com dieta para rebanhos mais produtivos**. Boletim Técnico, dez. 2007. Disponível em: <www.cepea.esalq.usp.br/leite/boletim/162/insumos.pdf>. Acesso em: 15 de maio de 2011.

CHUNG, Y.H.; RICO, D.E.; MARTINEZ, C.M.; CASSIDY, T.W.; NOIROT, N.; AMES, A.; NOIROT, VARGA, G.A. Effects of feeding dry glycerin to early postpartum holstein dairy cows on lactational performance and metabolic profiles. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.5682–5691, 2007.

DASARI, M. Crude Glycerol Potential Described. **Feedstuffs**, October 15, 2007.

DEFRAIN, J.M. et al. Feeding glycerol to transition dairy cows: Effects on blood metabolites and lactation performance. **Journal Dairy Science,** v. 87, p. 4195-4206, 2004.

DONKIN, S.S. Glycerol from biodiesel production: the new corn for dairy cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37 (supl.), 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 of Dairy Science,** v.90 (Suppl. 1), p.350, 2007.

DONKIN, S.S.; DOANE, P. **Glycerol as a Feed Ingredient in Dairy Rations.** In: Three-State Dairy Nutrition Conference. The Ohio State University, Michigan State University, Purdue University. Fort Wayne, IN. p.97-103, 2007.

DONKIN, S.S.; KOSER, S.L.; WHITE, H.M.; DOANE, P.H. CECAVA, M.J. Feeding value of gliycerol as a replacement for corn grain in rations fed to lactating dairy cow. **Journal of Dairy Science**, Champaingn, v.92, n.10, p.5111-5119, oct. 2009.

DRACKLEY, J.K. **Opportunities for Glycerol Use in Dairy Diets.** In: Four-State Dairy Nutrition and Management Conference. Iowa State University, University of Illinois, University of Minnesota, University of Wisconsin. Dubuque, Iowa, p.113-118. 2008.

FDA. 2006. **Code of Federal Regulations**, 21 CFR 582.1320, Title 21, v.6, 21CFR582.1320. Disponível em: <http://edocket.access.gpo.gov/cfr_2002/aprqtr/21cfr582.1320.htm>. Acesso em: 10 de maio de 2011.

FELICIANO FILHO, W.; PEREIRA JÚNIOR, J. Introdução ao biodiesel. **Informativo CRQ-IV**, Pinheiros, v.84, n.4, p.14-15, mar./abr., 2007.

FERNANDES, A.R.M. et al. Avaliação econômica e desempenho de machos e fêmeas Canchim em confinamento alimentados com dietas à base de silagem de milho e concentrado ou cana-de-açúcar e concentrado contendo grãos de girassol. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.855-864, 2007.

FIGUEIREDO, D.M.; OLIVEIRA, A.S.; SALES, M.F.L. et al. Análise econômica de quatro estratégias de suplementação para recria e engorda de bovinos em sistema pasto-suplemento. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.36, n.5, p.1443-1453, 2007.

HANSEN, C.F.; HERNANDEZA, A.; MULLAN, B.P. et al. A chemical analysis of samples of crude glycerol from the production of biodiesel in Australia, and the effects of feeding crude glycerol to growing-finishing pigs on performance, plasma metabolites and meat quality at slaughter. **Animal Production Science**, v.49, p.154–161, 2009.

IUPAC. **International Union of Pure and Applied Chemistry.** A Guide to IUPAC Nomenclature of Organic Compounds – Recomendations, 1993.

JOCHIMS, F.; PIRES, C.C.; GRIEBLER, L. et al. Comportamento ingestivo e consumo de forragem por cordeiras em pastagem de milheto recebendo ou não suplemento. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.39, n.3, p.572-581, 2010.

JOHNSON, R.B. The treatment of ketosis with glycerol and propylene glycol. **Cornell Vet.**, v.44, p.6-21, 1954.

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

KRISTENSEN, N.B.; RAUN, B.M.L. **Ruminal fermentation, portal absorption, and hepatic metabolism of glycerol infused into the rumen of lactating dairy cows. In: Energy and Protein Metabolism and Nutrition** – Proceedings of the 2nd International Symposium on Energy and Protein Metabolism and Nutrition, I. Ortigues-Marty, ed. EAAP Publication nº.124. Wageningen Academic Publisherd, The Neetherlands. 2007.

LANA, R.P. **Nutrição e alimentação animal** (mitos e realidades). 2.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2007. 344p.

MISSIO, R.L.; BRONDANI, I.L.; ALVES FILHO, D.L. et al. Comportamento ingestivo de tourinhos terminados em confinamento, alimentados com diferentes níveis de concentrado na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.39, n.7, p.1571-1578, 2010.

MOTA, C.J.A.; DA SILVA, C.X.A.; GONCALVES, V.L.C. **Química Nova**. v.32, n.3, p.639, 2009.

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. Washington: National Research Council, 7. ed., 2001. 381p.

OGBORN, K.L. 2006. **Effects of method of delivery of glycerol on performance and metabolism of dairy cows during the transition period.** MS thesis. Cornell University, Ithaca, NY.

OSBORNE, V.R.; ODONGO, N.E.; CANT, J.P.; SWANSON, K.C.; McBRIDE, B.W. Effects of supplementing glycerol and soybean oil in drinking water on feed and water intake, energy balance, and production performance dairy cows. **Journal of dairy Science**, Champaign, v.92, n.2, p.698-707, Feb. 2009.

PAGGI, R.A. et al. *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**, Cambridge, v.142, n.1, p.89-96, 2004.

PAIGE, G. **Variation in the chemical composition of crude glycerin: the knowledge bank at OSU**. 2009. Disponível em: <http://hdl.handle.net/1811/37082>. Acesso em: 18 de janeiro de 2010.

PARDO, R.M.P. et al. Comportamento ingestivo diurno de novilhos em pastejo a níveis crescentes de suplementação energética. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, p.1408-1418, 2003.

PETROBIO. **Biodiesel: Viabilidade econômica.** Ribeirão Preto, 2005. Disponível em: <http://www.plantebiodiesel.com.br/MANUAIS%20DO%20CD/27%2020BIODIESEL%20%20VIABILIDADE%20ECONOMICApara%20100000%20Litros%20de%20Biodiesel%20por%20dia.pdf>. Acesso em: 05 de maio de 2011.

PILAU, A. et al. Análise econômica de sistemas de produção para recria de bezerras de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.4, p.966-976, 2003.

PLÁ, J.A. **Perspectivas do biodiesel no Brasil.** Indicadores Econômicos FEE, Porto Alegre, v.30, n.2, p.179-190, set. 2002.

POTU, R.B.; ABUGHAZALEH, A.A.; HASTINGS, D.; ABOEL-NOR, S.; IBRAHIM, S. The effects of feeding glycerol on rumen fermentation and bacteria. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.92, n.1, p.89, Jan. 2009.

RIVALDI, J.D.; SARROUB, B.F.; FIORILO, R.; SILVA, S.S. Glicerol do biodiesel: estratégias biotecnológicas para o aproveitamento do glicerol gerado da produção de biodiesel. **Biotecnologia, ciência e desenvolvimento**, p.44-51, n.37, 2008.

SANTOS, F.A.P.; PENATI, M.A.; CARARETO, R. et al.. Produção de leite com base em pastagens. In: SANTOS, G.T.; UHLIG, L.; BRANCO, A.F.; et al. (Org.). B**ovinocultura de leite: inovação tecnológica e sustentabilidade**. 1 ed. Maringá: Eduem, p. 153-178, 2008.

SCHROEDER, A.; SUDEKUM, K.H. **Glycerol as a by-product of biodiesel production in diets for ruminants.** In: N. Watten and P. A. Salisbury, ed. New Horizons for an Old Crop. Proc. 10th Int. Rapeseed Congr., Camberra, Australia, Sept. 26-29, Paper nº. 241. 1999.

SELLERS, R.S. Glycerin as a feed ingredient, official definition(s) and approvals. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.91, n.1, p.392, Jan. 2008.

SHIN, J.H.; KIM, S.C.; WANG, D.; ADESOGAM, A.T.; STAPLES, C.R. Glycerol supplementation for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.92, n.1, p.88, Jan. 2009.

STORCK BIODIESEL. **O que é o biodiesel?** Curitiba. Disponível em: <www.storckbiodiesel.com.br>. Acesso em 05 de maio de 2011.

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

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

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

ZACARONI, O.F. **Respostas de vacas leiteiras à substituição de milho por glicerina bruta**. Lavras, MG: Universidade Federal de Lavras, 2010. 43p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Lavras, 2010.

II – OBJETIVOS GERAIS

O experimento foi conduzido objetivando-se avaliar o efeito e a potencialidade de utilização da glicerina bruta, proveniente da produção de biodiesel, no suplemento de vacas lactantes primíparas em pastagem tropical irrigada, verificando características produtivas, nutricionais, metabólicas e comportamentais.

III - CAPÍTULO I

GLICERINA BRUTA NO SUPLEMENTO DE VACAS PRIMÍPARAS LACTANTES MANTIDAS EM PASTAGEM TROPICAL IRRIGADA: CARACTERÍSTICAS PRODUTIVAS E NUTRICIONAIS

RESUMO: Objetivou-se com este estudo avaliar as características nutricionais e produtivas de vacas lactantes primíparas, mantidas em pastagem tropical irrigada, utilizando níveis de glicerina bruta no suplemento. O experimento foi conduzido na fazenda Rancho Santana, situada em Jequié/BA, no período de 21 de dezembro de 2010 a 16 de março de 2011. Foram utilizadas 10 vacas lactantes ¾ Holandês x ¼ Gir Leiteiro, primíparas, com 109 ± 24 dias de lactação, idade de 30 ± 6 meses e peso corporal de 426,2 ± 68,29 kg, sendo distribuídas em cinco tratamentos, utilizando o delineamento de quadrado latino cinco por cinco (5x5), sendo dois quadrados latinos simultâneos. Os tratamentos foram constituídos de níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento (0, 94, 191, 289, 389 g/kg, na matéria seca). Foram mensurados o consumo, digestibilidade aparente e a produção e composição do leite. Os resultados foram analisados estatisticamente por meio de análises de variância e regressão a 0,05 de probabilidade. Com exceção do consumo de glicerol e extrato etéreo, as variáveis de consumo não apresentaram diferenças significativas (P>0,05) entre os níveis de glicerina bruta. Com exceção do coeficiente de digestibilidade do extrato etéreo, todas as digestibilidades aparentes foram semelhantes entre os tratamentos (P>0,05). O teor e a produção de gordura apresentaram efeito quadrático entre os tratamentos (P<0,05). Para os teores de proteína, lactose, sólidos totais, extrato seco desengordurado, razão gordura:proteína, nitrogênio ureico no leite e contagem de células somáticas não foram observadas diferenças significativas (P>0,05) entre os tratamentos. Para vacas lactantes primíparas em pastagem tropical, pode incluir em até 389 g de glicerina bruta/kg do suplemento sem interferências nutricionais e produtivas.

PALAVRAS-CHAVE: biodiesel, coproduto, glicerol, ingestão, suplementação

CRUDE GLYCERIN IN SUPPLEMENT TO PRIMIPAROUS LACTATING COWS MANTAINED UNDER PASTURE IRRIGATED TROPICAL: PRODUCTIVE AND NUTRITIONAL CHARACTERISTICS

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate the nutritional and productive characteristics of primiparous lactating cows maintained under pasture irrigated tropical, using levels of crude glycerin in the supplement. The experiment was conducted at Rancho Santana farm, located in Jequié city, Bahia, Brazil, in the period from December 21, 2010 to March 16, 2011. Ten ¾ Holstein × ¼ Dairy Gyr lactating primiparous cows, with 109 ± 24 days of lactation and a age of 30 ± 6 months and body weight of 426.2 ± 68.29 kg were distributed into five treatments, using two simultaneous 5 × 5 latin squares. Treatments consisted of inclusion levels of crude glycerin in the supplement (0, 94, 191, 289, 389 g/kg of dry matter). Intake, digestibility, milk production and composition were measured. Results were statistically analyzed by analysis of variance and regression at 0.05 probability. Except for the intake of glycerol and ether extract, intake variables no significant differences were found between the levels of crude glycerin (P>0.05). Except for the digestibility of ether extract, all digestibility values were similar between treatments (P>0.05). The fat content and yield showed quadratic effect between treatments (P<0.05). No significant differences were observed for protein, lactose, total solids, nonfat dry extract, fat:protein ratio, milk urea nitrogen and somatic cell count between treatments (P>0.05). For primiparous lactating cows grazing on tropical pasture, up to 389 g of crude glycerin/kg of dietary supplement can be included without nutritional and productive interference.

KEYWORDS: biodiesel, coproduct, glycerol, intake, supplementation

INTRODUÇÃO

O Brasil é o sexto maior produtor mundial de leite e tem grande potencial para atender ao crescente consumo interno e aumentar a participação como exportador de produtos lácteos. Entretanto, para consolidar este cenário, é necessário elevar a produção de leite de alta qualidade e manter os custos compatíveis com a rentabilidade da atividade.

O glicerol ou propano-1,2,3-triol é um composto orgânico pertencente à função álcool, sendo líquido à temperatura ambiente (25°C), higroscópico, inodoro, viscoso e com sabor adocicado. Com a introdução de óleo vegetal na cadeia de produção do biocombustível no Brasil, é esperado o aumento da oferta de glicerol no mercado, sendo que não existe um destino proporcional à oferta, ocasionando um entrave ambiental.

A inclusão de glicerol na alimentação animal em substituição ao milho constitui-se em uma possibilidade alternativa para formulação de dietas para vacas em lactação, além da consequente diminuição dos custos de produção, tendo em vista os preços praticados no mercado. Entretanto, informações adicionais à avaliação econômica de sua inclusão em dietas são necessárias para determinar os efeitos do glicerol sobre características relevantes, como consumo, produção de leite e digestibilidade, principalmente em dietas nas quais o consumo e digestibilidade da fibra podem limitar o desempenho produtivo (DONKIN et al.,2009).

Objetivou-se com este estudo avaliar as características nutricionais e produtivas de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical irrigada, utilizando níveis de glicerina bruta no suplemento.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na fazenda Rancho Santana, situada em Jequié/BA, localizada a 13° 52' 14'' de latitude Sul, 40° 09' 47'' de longitude Oeste, com altitude média de 260 m. O trabalho de campo foi realizado no período de 21 de dezembro de 2010 a 16 de março de 2011, implantado numa área de 7600 m^2, dividida em 14 piquetes de aproximadamente 543 m^2 cada, formada com *Brachiaria brizantha* cultivar MG-5, sendo irrigada com aspersão fixa e adubada durante o período experimental com 240 kg N/ha, na forma de ureia, distribuídos durante o período experimental. Foram coletados os dados de temperatura (termômetro de máxima e mínima com amplitude de -40 a +50°C, Walmur®), precipitação e irrigação durante o período experimental (Tabela 2). Foi utilizado o sistema intermitente com ocupação de um dia e 13 dias de descanso.

Tabela 2. Temperatura média, precipitação total e irrigação total durante cada período e a média dos períodos

Item	Período					Média
	1º	2º	3º	4º	5º	
Tmín. à sombra	23,7	22,0	22,9	24,1	22,9	23,1
Tmáx. à sombra	35,4	34,7	37,7	41,7	37,7	37,4
Tmín. ao sol	21,8	20,0	20,3	21,7	20,5	20,9
Tmáx. ao sol	37,8	37,1	40,1	43,1	42,2	40,1
Precipitação (mm)	33	13	52	0	157	51
Irrigação (mm)	170	165	152	180	20	137

1º período: 01/01/2011 a 15/01/2011; 2º período: 16/01/2011 a 30/01/2011; 3º período: 31/01/2011 a 14/02/2011; 4º período: 15/02/2011 a 01/03/2011; 5º período: 02/03/2011 a 16/03/2011. Tmín.- temperatura mínima; Tmáx.- temperatura máxima.

Foram utilizadas 10 vacas lactantes ¾ Holandês x ¼ Gir Leiteiro, primíparas, com 109 ± 24 dias de lactação, idade inicial de 30 ± 6 meses e peso corporal inicial de 426,2 ± 68,29 kg, sendo distribuídas em cinco tratamentos, em delineamento experimental de quadrado latino cinco por cinco (5x5), usando-se dois quadrados simultâneos.

Os tratamentos foram constituídos de níveis de glicerina bruta no suplemento: G0 – sem inclusão de glicerina no suplemento (controle); G94 – 94 g de glicerina/kg de suplemento; G191 – 191 g de glicerina/kg de suplemento; G289 – 289 g de glicerina/kg de suplemento; G389 – 389 g de glicerina/kg de suplemento (Tabela 3). A quantidade de suplemento fornecido diariamente em todos os tratamentos foi 4,65 kg de MS. Estimou-se uma relação volumoso:concentrado de 75:25, sendo que a inclusão da glicerina representou uma tendência 0, 45, 90, 135 e 180 g de glicerina bruta por kg da dieta, respectivamente.

Tabela 3. Proporções dos ingredientes e composição bromatológicas do suplemento

Item	Nível de glicerina bruta no suplemento (g/kg)				
	G0	G94	G191	G289	G389
Milho grão moído (g/kg MN)	772	653	531	407	281
Farelo de soja (g/kg MN)	201	224	249	274	300
Glicerina bruta (g/kg MN)	---	94	191	289	389
Calcário calcítico (g/kg MN)	9	9	9	9	8
Fosfato bicálcico (g/kg MN)	---	---	---	---	1
Sal mineral[1] (g/kg MN)	20	20	20	20	20
MS (g/kg)	886	890	887	887	886
PB (g/kg MS)	166	163	164	164	165
NDT (g/kg MS)	704	722	706	695	717
CNF (g/kg MS)	602	606	603	591	589
FDNcp (g/kg MS)	98	95	92	87	88
EE (g/kg MS)	40	71	103	135	168

[1]Composição: cálcio 200 g; fósforo 100 g; sódio 68 g; magnésio 15 g; enxofre 12 g; cobalto 200 mg; cobre 1650 mg; iodo 195 mg; manganês 1960 mg; níquel 40 mg; selênio 32 mg; zinco 6285 mg; ferro 560 mg; flúor (máximo) 1000 mg.

MS - matéria seca; PB - proteína bruta; NDT – nutrientes digestíveis totais; CNF - carboidratos não fibrosos; FDNcp - fibra em detergente neutro corrigido para cinza e proteína; EE – extrato etéreo.

A ordenha matinal foi realizada às 5h00 horas e a segunda ordenha às 16h00 horas. A ordenha foi realizada de forma mecânica (tipo balde ao pé, modelo fila indiana com fosso). O suplemento concentrado foi fornecido logo após as ordenhas, de forma

individual, em cocho de polipropileno, com disponibilidade de 100 cm lineares por animal.

Os animais foram submetidos a um período de adaptação de 10 dias ao coproduto, antes do início do período experimental, seguindo recomendação de Donkin et al. (2009), via fornecimento da dieta intermediária (G191). O experimento teve duração de 75 dias, divididos em cinco períodos de 15 dias, sendo 10 dias para adaptação dos animais às dietas experimentais e cinco dias para coleta de dados.

A pastagem foi avaliada diariamente, utilizando os métodos de McMeniman (1997), Wilm et al. (1994), Gardner (1986) e Campbell (1966), para a coleta, biomassa residual diária (BRD), biomassa de forragem (disponibilidade) e taxa de acúmulo diário (TAD), respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4. Média e desvio-padrão (DP) das características da forragem durante o período experimental

	DTMS[1]	DMSV[1]	MSpd[2]	BRD[3]	TL[4]	TAD[3]	OF[5]	AF[6]	F[2]	C[2]	MM[2]
Média	5367	4187	720	1945	12,5	263	39	52	380	520	100
DP	±1243	±745	±5	±206	±0,2	±47	±8	±2	±5	±6	±2

[1]Expressos em kg/ha; [2]Expressos em g/kg; [3]Expressos em kg MS/ha/dia; [4]Expresso em UA/ha; [5]Expresso em kg MS/100 kg PC/dia; [6]Expresso em cm.

DTMS - disponibilidade total de matéria seca; DMSV – disponibilidade de matéria seca verde; MSpd – matéria seca potencialmente digestível; BRD - biomassa residual diária; TL - taxa de lotação; TAD - taxa de acúmulo diário; OF - oferta de forragem; AF - altura da forragem; F – folha; C – colmo; MM – matéria morta.

A taxa de lotação (TL) foi calculada considerando a unidade animal (UA, 450 kg PC). A oferta de forragem (OF) foi calculada de acordo com a seguinte fórmula: OF = $\{(BRD*área + TAD*área)/PC_{total}\}*100$, em que: OF = oferta de forragem, em kg MS/100 kg PC/dia; BRD = biomassa residual total, em kg de MS/ha/dia; TAD = taxa de acúmulo diário, em kg MS/ha/dia; PC = peso corporal total dos animais, em kg/ha.

Foi calculada a MS potencialmente digestível (MSpd) da pastagem, conforme descrito por Paulino et al. (2006), pela equação: MSpd = 0,98 * (100 – %FDN) + (%FDN – %FDNi). Foi mensurada a altura comprimida da forragem através de uma régua graduada, com o auxílio de uma folha plástica transparente, em todos os pontos

de coleta da forragem. Durante o período de coleta (últimos cinco dias de cada período), foram coletadas as amostras do pastejo simulado, que foram obtidas através de observação dos animais, identificando-se o tipo de material consumido e coletando-se uma amostra semelhante ao alimento ingerido (JOHNSON, 1978).

Para estimar a produção fecal, foi utilizado o LIPE® (Lignina isolada, purificada e enriquecida de *Eucalyptus grandis*, UFMG, Minas Gerais) como indicador externo, sendo administrada diariamente uma capsula após o fornecimento do concentrado matinal durante sete dias, dos quais três dias para adaptação e regulação do fluxo de excreção do marcador e quatro dias para coleta das fezes. Para determinação do indicador interno, fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), as amostras da forragem, das fezes e dos concentrados foram incubados no rúmen de quatro animais fistulados por 240 horas (CASALI et al., 2008), utilizando saquinhos de TNT 100 e considerando a relação de 20 mg de amostra/cm^2, sendo o resíduo após incubação considerado como a fração indigestível.

O consumo de MS foi obtido por meio da seguinte equação: CMS = {[(PF*CIFZ) – IS]/CIFR} + CMSS, em que CMS é o consumo de matéria seca (kg/dia); PF é a produção fecal (kg/dia); CIFZ concentração do indicador presente nas fezes (kg/kg); IS é o indicador presente no suplemento (kg/dia); CIFR é a concentração do indicador presente na forragem colhida como pastejo simulado (kg/kg) e o CMSS que é o consumo de matéria seca do suplemento (kg/dia).

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Fitotecnia e Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, *Campus* de Vitória da Conquista/BA. As amostras do suplemento concentrado, pastejo simulado (Tabela 5) e das fezes foram pré-secas em estufa de ventilação forçada, à 55 ºC, por 72 horas. Os teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE) foram analisados de acordo com AOAC (2000). Foram analisadas fibra em detergente neutro corrigida para cinza e proteína (FDNcp) e fibra em detergente ácido (FDA) pelo método sequencial, conforme Detmann & Valadares Filho (2010). Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram obtidos por intermédio da equação: 100 - (%PB + %EE + %Cinza + %FDNcp) (SNIFFEN et al., 1992).

Tabela 5. Composição bromatológica de amostras da forragem coletada por meio do pastejo simulado nos respectivos períodos experimentais.

Item	Período					Média
	1º	2º	3º	4º	5º	
MS (g/kg)	298	320	307	251	323	300
MO (g/kg MS)	917	896	906	907	909	907
FDNcp (g/kg MS)	614	644	616	624	618	623
FDA (g/kg MS)	374	378	356	366	376	370
PB (g/kg MS)	133	143	137	132	145	133
CNF (g/kg MS)	140	70	129	109	127	115

MS - matéria seca; MO – matéria orgânica; FDNcp - fibra em detergente neutro corrigido para cinza e proteína; FDA - fibra em detergente ácido PB - proteína bruta; CNF - carboidratos não-fibrosos.

Os teores de proteína bruta, matéria mineral e água da glicerina bruta foram obtidos pelos mesmos procedimentos realizados para as análises de alimentos (Tabela 6). O teor de glicerol, ácidos graxos totais e metanol foram obtidos por cromatografia gasosa em cromatógrafo a gás modelo CG 17ª marca SHIMADZU com detector FID. A amostra foi colocada em um funil de separação de 250 mL e extraída com um volume de 25 mL de Etanol/Água 50:50. Agitaram-se várias vezes e, em seguida, deixou em repouso por uma hora. Foram formadas duas fases, recolhendo a fase inferior e injetando-a no cromatógrafo. Foi utilizada coluna capilar carbowax (30 m x 0,25 mm).

Para a separação cromatográfica, 1 µL de amostra foi injetada com o auxílio de seringa de 10 µL (Hamilton®) sistema Split = 10. O gás nitrogênio foi utilizado como carreador com velocidade linear programada para 26,4 cm/s e os gases hidrogênio e ar sintético formaram a chama no detector. As temperaturas do injetor e do detector foram de 280ºC e 300ºC, respectivamente. A temperatura inicial da coluna foi de 40ºC (mantida por 7 minutos), aumentando em 2ºC/minuto até atingir 80ºC e 6ºC/minuto até atingir 240ºC (mantida por 40 minutos), totalizando 93 minutos de análise. O fluxo do gás de arraste na coluna foi de 1,09 mL/minuto. A identificação dos compostos foi realizada através do tempo de retenção do padrão correspondente.

Tabela 6. Composição físico-química da glicerina bruta

Item	Teor
Água (g/kg MN)	90
Glicerol (g/kg MS)	482
Metanol (g/kg MS)	66
Ácidos graxos totais (g/kg MS)	369
Proteína bruta (g/kg MS)	2
Matéria mineral (g/kg MS)	80
Densidade (g/cm^3)	0,95

A produção de leite foi avaliada do 11º ao 15º dia de cada período experimental. O cálculo da produção de leite corrigida para 35 g/kg de gordura (PLcor) foi feito utilizando-se a seguinte fórmula (TYRRELL & REID, 1965): PLcor = 12,82 * Pgor + 7,13 * Pptn + 0,323 * PL; em que: PL = produção de leite, kg/dia; Pgor = produção de gordura, kg/dia; e Pptn = produção de proteína, kg/dia.

As amostras de leite para a determinação da sua composição foram coletadas individualmente em duas ordenhas consecutivas, no 13° e 14° dia de cada período. Foram retiradas alíquotas compostas de 20 mL/Litro produzido (EIFERT et al., 2006) da ordenhas da manhã e da tarde, sendo que foi considerada a proporcionalidade de produção de cada animal para formação da amostra composta. Foi analisado o teor de gordura, proteína, lactose e sólidos totais pelo processo de infravermelho pelo analisador Bentley 2000 (Bentley Instruments®), nitrogênio ureico pelo analisador ChemSpec 150 (Bentley Instruments®) e contagem de células somáticas (CCS) pelo método de citometria fluxométrica pelo Somacount 300 (Bentley Instruments®), no Laboratório da Clínica do Leite do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP.

Em todas as variáveis, um animal representou uma unidade experimental. Os dados foram analisados estatisticamente por meio de análises de variância e regressão a

0,05 de probabilidade, com o auxílio do programa SAEG (versão 9.1). O modelo estatístico utilizado foi $Y_{ij(k)} = m + L_i + C_j + t_k + e_{ij(k)}$, sendo: $Y_{ij(k)}$ - o valor observado para a variável em estudo referente ao k-ésimo tratamento, na i-ésima linha e na j-ésima coluna; m – média de todas as unidades experimentais para a variável em estudo; Li - efeito da linha i; C_j – efeito da coluna j + t_k - efeito do tratamento k; e_{ijk} – erro experimental.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com exceção do consumo de glicerol e extrato etéreo, as variáveis do consumo não apresentaram diferenças significativas (P>0,05) entre os níveis de GB (Tabela 7). A ausência de efeito da inclusão de glicerol sobre o CMST é consistente com outros resultados de pesquisa realizadas em confinamento (DEFRAIN et al., 2004; CHUNG et al., 2007; DONKIN et al., 2007; DONKIN et al., 2009; WANG et al., 2009), no entanto, contrasta com os estudos de Fisher et al. (1971), que afirmaram que o glicerol foi estimulante sobre o consumo, quando os animais foram alimentados com 472 g/dia no concentrado; e Ogborn (2006) que afirmou que este triálcool possui efeito depressivo sobre o consumo. Fisher et al. (1971) e Ogborn (2006) descreveram que esta variação ocorre em função da oferta de energia metabolizável (2,17 Mcal/kg da dieta no presente estudo), sendo que, em condição de alto fornecimento de energia, em função do elevado nível de glicerol, ocorre redução no consumo, enquanto que o fornecimento moderado de glicerol favorece a eficiência de utilização dos nutrientes, elevando a ingestão.

Wang et al. (2009) afirmaram que estes efeitos variáveis do glicerol sobre o CMST podem ser devidos à qualidade do coproduto utilizado, do nível de inclusão de glicerol ou da proporção de concentrado e volumoso na dieta. No mercado encontram-se, basicamente, duas formas de apresentação da glicerina, a purificada com teor de 95% de glicerol e a bruta com os mais diversos teores de glicerol, mas sempre inferior ao teor de purificada. Com o CMST similar entre os níveis de GB (Tabela 6), observa-se que o mesmo foi composto pela soma do consumo semelhante da forragem e suplemento nas diferentes rações. Sendo assim, destaca-se que não houve relação entre o nível de GB na dieta e o consumo de MS da forragem.

Tendo em vista que a GB em temperatura ambiente é líquida, salienta-se que a inclusão de 390 g por kg torna o suplemento mais pastoso e, mesmo assim, esta alteração física para sua consistência não promoveu rejeição do suplemento. Mertens (1987) destaca que a avaliação de alimentos inicia-se pela verificação no consumo destes pelos animais, avaliando sua aceitabilidade e velocidade de ingestão (capacidade de consumir a fibra em detergente neutro). Neste contexto, a GB não influencia no

consumo da fração de carboidratos fibrosos, facultando, assim, sua utilização na alimentação de vacas lactantes consumindo pastagem tropical.

Tabela 7. Consumo diário de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento

Item	Nível de glicerina bruta					CV[1]	Valor P [2 3]		
	G0	G94	G191	G289	G389		L	Q	FA
CG (kg)[4]	0,00	0,19	0,39	0,59	0,79	7,4	0,0342	0,0285	0,1505
CMSF (kg)	9,59	8,63	8,52	8,74	9,55	13,7	0,2232	0,4829	0,4302
CMSF (g/kg PC)	22,3	20,3	19,5	20,4	22,5	24,6	0,2733	0,5393	0,3855
CMST (kg)	14,24	13,28	13,17	13,40	14,20	9,1	0,5390	0,6942	0,5838
CMST (g/kg PC)	33,1	31,0	30,2	31,3	33,5	21,2	0,6745	0,8756	0,3901
CFDN (kg)	7,06	6,37	6,34	6,48	7,01	12,2	0,5238	0,7982	0,6081
CFDN (g/kg PC)	16,4	15,0	14,5	15,1	16,5	23,5	0,6345	0,7238	0,4872
CMO (kg)	13,77	12,77	12,65	12,77	13,58	9,4	0,3234	0,5221	0,6978
CCNF (kg)	3,90	3,80	3,75	3,73	3,82	3,8	0,3931	0,6129	0,5505
CPB (kg)	2,05	1,91	1,90	1,93	2,04	8,5	0,4980	0,6897	0,4392
CEE[5] (kg)	0,43	0,55	0,69	0,85	1,02	8,7	0,0154	0,0093	0,1092
CNDT (kg)	8,41	7,97	7,99	8,12	8,56	11,6	0,6727	0,7394	0,5986

[1] Coeficiente de variação (%). [2] L e Q: efeitos de ordem linear e quadrática relativos à inclusão de glicerina bruta no suplemento, respectivamente. [3] FA = falta de ajuste. [4] $\hat{Y}$ = 0,0027 + 2,0413 x GB (R^2 = 1,00); [5] $\hat{Y}$ = 0,4149 + 0,0015 x GB (R^2 = 1,00). CG – consumo de glicerol; CMSF – consumo de MS da forragem; CMST – consumo de MS total; CFDN - consumos de fibra em detergente neutro; CCNF – consumo de carboidratos não fibrosos; CPB – consumo de proteína bruta; CEE - consumo de extrato etéreo; CNDT – consumo de nutrientes digestíveis totais.

A maioria dos consumos de nutrientes não diferiram entre os níveis de GB no suplemento (P>0,05), pois foram semelhantes na composição químico-bromatológica, além do fato das dietas serem isoenergéticas e isoproteicas, e o CMST ter sido igual, o que certamente influenciou estes resultados. Donkin et al. (2009) relataram que o consumo de fibra em detergente neutro diminuiu com o aumento de glicerol na dieta, sugerindo mais estudos para entendimentos dos efeitos na ingestão e digestão da FDN.

Com exceção da digestibilidade do extrato etéreo (DEE), as digestibilidades aparentes foram semelhantes entre os níveis de GB (P>0,05), provavelmente em decorrência da elevação no consumo do nutriente (Tabela 8).

Tabela 8. Digestibilidade aparente de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento

Item (g/kg)	Nível de glicerina bruta no suplemento					CV[1]	Valor P [2 3]		
	G0	G94	G191	G289	G389		L	Q	FA
DMS	591,5	591,2	594,9	605,4	600,5	5,0	0,3593	0,6782	0,1872
DMO	646,7	644,4	651,1	658,4	651,0	4,0	0,4890	0,5743	0,6508
DFDN	424,9	415,9	437,9	437,7	445,3	12,9	0,4271	0,6489	0,4287
DCNF	902,5	883,2	875,3	880,4	864,6	5,6	0,5072	0,7228	0,7395
DPB	635,3	642,4	645,1	660,9	648,7	6,8	0,2845	0,4739	0,8439
DEE[4]	505,8	609,3	642,2	629,1	639,5	16,7	0,0298	0,4329	0,6082
NDT	590,4	597,6	607,1	606,1	600,3	5,1	0,3192	0,5391	0,5631

[1] Coeficiente de variação (%). [2] L e Q: efeitos de ordem linear e quadrática relativos à inclusão de glicerina bruta no suplemento, respectivamente. [3] FA = falta de ajuste. [4] DEE: $\hat{Y} = 547,71 + 6,383 \times GB$ ($r^2 = 0,63$). DMS – digestibilidade de matéria seca; DMO – digestibilidade de matéria orgânica; DFDN – digestibilidade de fibra em detergente neutro;; DCNF – digestibilidade de carboidratos não fibrosos; DPB – digestibilidade de proteína bruta; DEE – digestibilidade de extrato etéreo; NDT – nutrientes digestíveis totais.

Observando as médias encontradas para DEE em cada tratamento, verifica-se que aqueles com inclusão de GB apresentam-se próximos entre si, e distintos do

controle, assim, o menor valor médio encontrado para esta variável pode ser explicado pela menor digestibilidade aparente para a dieta sem o coproduto.

Khalili et al. (1997) afirmaram que o fornecimento de glicerol junto com plantas com elevado teor de ácidos graxos (extrato etéreo) aumentam a digestibilidade dos lipídeos, levando à influência de que a associação do glicerol e ácidos graxos resultam em um aumento na produção de PLc (KHALILI et al. 1997), sendo uma consequência do aumento da digestibilidade de lipídios. Apesar do alto teor de ácidos graxos totais na glicerina bruta utilizada, bem como o consumo total de extreto etéreo, a digestibilidade da fibra em detergente neutro não alterou com a elevação dos níveis de glicerina em estudo.

Donkin et al. (2009), trabalhando com níveis de glicerol na dieta (0, 50, 100 e 150 g/kg) em vacas Holandesas, verificaram elevações nas digestibilidades da MS (DMS), matéria orgânica (DMO) e proteína bruta (DPB), e não foi encontrado diferenças no coeficiente de digestibilidade da FDN (DFDN) entre o controle e os níveis de 100 e 150 g/kg, mas houve diminuição para o nível 50 g/kg em relação ao controle.

Verifica-se, na Tabela 9, que não houve diferenças entre os tratamentos (P>0,05) para produção de leite (PL) e conversão alimentar (CA). Vários estudos na literatura não encontraram diferenças significativas para a PL (CHUNG et al., 2007; DONKIN et al., 2009; WANG et al., 2009; RICO et al., 2009; SHIN et al., 2009). Entretanto, Boyd et al. (2009) avaliaram a resposta da inclusão de glicerol (controle, 200 e 400 g de glicerol) na dieta de vacas em lactação e verificaram que houve queda na produção de leite. Com efeito inverso, Bodarski et al. (2005) avaliaram o fornecimento de 300 e 500 ml/dia de glicerol para vacas lactantes e verificaram um incremento de 14,6 e 12,5% na produção de leite em relação ao controle. Verifica-se que existem resultados inconsistentes entre os estudos realizados com glicerol, sendo, assim, ergue-se a hipótese de interação entre o glicerol e os outros ingredientes da dieta.

A produção de leite corrigida para 35 g/kg de gordura (PLc), a variação de peso corporal no período (VPCp) e por dia (VPCd) e a variação de escore de condição corporal (VECC) apresentaram efeito linear decrescente (P<0,05) com o aumento dos níveis de GB. Em estudos anteriores, Donkin et al. (2009) observaram uma elevação do peso corporal com os níveis de 100 e 150 g/kg de inclusão de glicerol, enquanto que

para o nível de 50 g/kg, houve semelhança com o controle. Já Wang et al. (2009) encontraram elevação do PC com aumento da inclusão de glicerol.

Tabela 9. Parâmetros produtivos de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento

Item	Nível de glicerina bruta no suplemento					CV[1]	Valor P [2 3]		
	G0	G94	G191	G289	G389		L	Q	FA
PL (kg)	13,3	14,3	14,3	14,0	13,6	16,7	0,3482	0,7589	0,6078
PLc[4] (kg)	19,19	18,31	18,14	17,40	17,88	7,05	0,0243	0,0464	0,1495
CA (kg MS/kg leite)	0,75	0,73	0,73	0,77	0,80	12,13	0,5670	0,8609	0,7590
VPCp[5] (kg)	8,0	11,4	1,1	- 2,7	- 11,0	724,9	0,0396	0,7865	0,6790
VPCd[6] (kg)	0,53	0,76	0,07	- 0,18	- 0,73	724,9	0,0396	0,7865	0,6790
VECC[7](unid.)	0,05	0,05	- 0,12	- 0,05	- 0,20	439,5	0,0412	0,4978	0,3473

[1] Coeficiente de variação (%). [2] L e Q: efeitos de ordem linear e quadrática relativos à inclusão de glicerina bruta no suplemento, respectivamente. [3] FA = falta de ajuste. [4] PLc: $\hat{Y} = 18,894 - 0,0786 \times GB + 0,0043 \times GB^2$ ($r^2 = 0,84$); [5]VPCp: $\hat{Y} = 11,78 - 1,1578 \times GB$ ($r^2 = 0,86$); [6] VPCd: $\hat{Y} = 785,33 - 77,185 \times GB$ ($r^2 = 0,86$); [7] VECC: $\hat{Y} = 0,065 - 0,0133 \times GB$ ($r^2 = 0,75$). PL – produção leiteira diária; PLc – produção leiteira diária corrigida para 3,5% de gordura; CA – conversão alimentar; VPCp – variação do peso corporal no período; VPCd – variação do peso corporal por dia; VECC – variação de escore de condição corporal.

Verifica-se uma associação entre VPC (dia e período) e VECC, tendo em vista a semelhança de seus efeitos. Para cada unidade de ECC (0-5), representa uma mudança de 82 kg PC para vacas da raça Holandês (NRC, 2001). A média de variação do ECC relativa ao PC encontrada neste estudo foi inferior aos valores citados pelo NRC (2001) de vacas Girolando de peso corporal inicial médio de 426,2 ± 68,29 kg, as quais apresentaram para cada unidade 24,7 kg no PC.

Os resultados encontrados para VPC e CMST sugerem a hipótese de diminuição na eficiência de conversão do CMST para ganho de peso corporal com o aumento do nível de GB no suplemento. Este efeito pode ter ocorrido por vários fatores que alteram o metabolismo com diminuição da eficiência energética para síntese do leite.

Donkin et al. (2009) sugerem que mudanças na eficiência energética podem ser devidas a efeitos diretos do glicerol na fermentação ruminal no metabolismo. Em estudos com vacas no pós-parto recebendo glicerol na dieta (CHUNG et al., 2007) ou na água (OSBORNE et al., 2009), indicaram reduções nos níveis de betahidroxibutirato no plasma. Estes resultados sugerem uma alteração metabólica no sentido de reduzir a oxidação de ácidos graxos a cetonas ou aumentar a utilização de cetonas por tecidos extra-hepáticos, quando os animais são alimentados com glicerol.

Apesar dos ruminantes utilizarem os ácidos graxos voláteis como principal fonte energética, a glicose passa a representar importância em vacas lactantes, devido à elevada exigência energética, sendo essa glicose produzida pela via da gliconeogênese, que ocorrem 85% no fígado. Sendo assim, o glicerol pode ser usado na produção de glicose no fígado, ou ser recombinado com ácidos graxos livres e ácidos graxos não esterificados para a síntese de triglicerídeos. O fígado utiliza a β-oxidação dos ácidos graxos livres e dos ácidos de cadeia longa para obtenção de energia, sendo que dois ácidos de dois carbonos convertidos até acetil-CoA combinam com o oxaloacetato, para ingresso no ciclo de Krebs, e parte do ácido oxaloacetato pode ser usado para a gliconeogênese, limitando a quantidade de acetil- CoA derivada da β-oxidação, que pode ingressar no ciclo de Krebs. As concentrações circulantes de glicerol podem servir para modular a modificação de triglicérides do tecido adiposo. Estes dados apontam para possibilidades ainda não exploradas de interferência do metabolismo pós-ruminal do glicerol na vaca leiteira, modulando seu metabolismo lipídico (DONKIN et al., 2009).

Apesar dos parâmetros reprodutivos não serem objetivo principal do atual estudo, ressalta-se que a perda de peso e de condição corporal pode acarretar em aumento de ineficiência em reprodução, dependentes da velocidade e da extensão das perdas teciduais envolvidas.

O teor e a produção de gordura apresentaram efeito quadrático em função dos níveis de GB ($P<0,05$) (Tabela 10). De acordo com a equação encontrada, os menores valores são encontrados ao nível 132 e 126 g/kg para o teor e produção de gordura no leite, respectivamente. Entretanto, Ogborn (2006) e Wang et al. (2009), avaliando a inclusão de glicerol na dieta de vacas lactantes, não observaram diferenças para os teores de gordura entre os níveis de GB.

Donkin & Doane (2007) constataram que a composição do leite não foi afetada pela adição de glicerol até 150 g/kg da MS da dieta. Portanto, o menor teor de gordura do leite na dieta com a inclusão do glicerol é coerente com DeFrain et al. (2004) e Chung et al. (2007), que relataram uma menor produção de gordura no leite, quando os animais foram alimentados com glicerol.

Segundo Oliveira et al. (2007), a maior parte da redução da gordura do leite é produzida pelo isômero do ácido linoleico conjugado C18:2 *trans*10, *cis*12, inibindo a ação das enzimas promotoras da lipogênese na glândula mamária. O consumo do ácido linoleico via dieta promove a maior parte do ácido linoleico conjugado, que é sintetizado endogenamente por ação da enzima Δ^9-desaturase presente na glândula mamária, tendo como substrato os ácidos graxos C18:1 *trans*-11 e C18:1 *trans*-7, formados durante o processo de biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos poli-insaturados presentes na dieta (GRIINARI et al., 2000). As dietas com alto teor de concentrados, baixo teor de forragens, presença de forragens finamente picadas e adição de ionóforos têm resultado em valores mais elevados de C18:2 *trans*-10, *cis*-12 (BAUMGARD et al., 2000). Entretanto, o presente estudo não se caracteriza pela presença de fatores que induzem este efeito, como elevado nível de inclusão de concentrado, baixa forragem, forragem finamente picada e adição de ionóforos, promovendo, assim, depressão dos teores de gordura no leite.

Para os teores de proteína, lactose, sólidos totais, extrato seco desengordurado, razão gordura:proteína, nitrogênio ureico no leite (NUL) e contagem de células somáticas (CCS), não foram observadas diferenças significativas (P>0,05) entre os tratamentos.

Donkin et al. (2009), trabalhando com níveis de glicerol na dieta (0, 50, 100 e 150 g/kg) em vacas Holandesas, encontraram diferenças no NUL, sendo um efeito linear decrescente com elevação dos níveis de glicerol. Efeito decrescente para o NUL também foi encontrado por DeFrain et al. (2004), provavelmente em função do efeito gliconeogênico do glicerol, que aumenta o aporte energético, reduzindo, por conseguinte, a excreção de nitrogênio como ureia no leite. Porém, outros estudos não encontraram efeito do glicerol sobre o NUL (OGBOM, 2006; CHUNG et al., 2007).

Tabela 10. Composição do leite de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento

Item	Nível de glicerina bruta no suplemento					CV[1]	Valor P [2 3]		
	G0	G94	G191	G289	G389		L	Q	FA
Gordura[4] (g/kg)	46,8	42,3	42,1	38,6	41,4	12,3	0,0391	0,0272	0,0553
Gordura[5] (kg)	0,80	0,72	0,72	0,66	0,71	12,3	0,0391	0,0272	0,0553
Proteína (g/kg)	38,2	36,5	35,4	36,4	36,4	13,4	0,9069	0,6043	0,8920
Proteína (kg)	0,65	0,62	0,60	0,62	0,62	13,4	0,9069	0,6043	0,8920
Lactose (g/kg)	49,2	46,5	46,5	47,1	46,6	9,1	0,4029	0,5357	0,2805
ST (g/kg)	144,5	135,1	133,3	131,5	133,5	8,3	0,1390	0,4623	0,1422
ESD (g/kg)	97,7	92,8	91,2	91,9	92,1	9,9	0,7516	0,8798	0,6610
G:P	1,24	1,16	1,23	1,07	1,14	19,4	0,6758	0,8574	0,5745
NUL (mg/dL)	15,34	14,40	16,83	16,05	15,75	15,4	0,3432	0,1862	0,3051
CCS ($x10^3$/mL)	131	106	112	110	108	85,7	0,1973	0,0713	0,7078

[1] Coeficiente de variação (%). [2] L e Q: efeitos de ordem linear e quadrática relativos à inclusão de glicerina bruta no suplemento, respectivamente. [3] FA = falta de ajuste. [4] Gordura (g/kg): $\hat{Y} = 46{,}729 - 1{,}03 \times GB + 0{,}039 \times GB^2$ ($R^2 = 0{,}86$); [5] Gordura (kg): $\hat{Y} = 0{,}7979 - 0{,}0176 \times GB + 0{,}0007 \times GB^2$ ($R^2 = 0{,}86$). ST – sólidos totais; ESD – extrato seco desengordurado; G:P – relação gordura/proteína; NUL – nitrogênio uréico no leite; CCS – contagem de células somáticas.

A média encontrada para NUL foi de 15,67 mg/dL para produção de 13,9 kg de leite/dia, estando acima do valor encontrado por Lucci et al. (2006), que foi de 14,15 mg/dL para o tratamento que atendia completamente às exigências de proteína bruta, porém, a produção foi de 12,4 kg de leite/dia. O valor de NUL calculado pela equação sugerida por Meyer et al. (2006) é 11,0 mg/dL (NUL = 9,52 + 0,1054 x PL; R^2=0,65), bem inferior ao valor real encontrado no estudo, informando, assim, que a equação não se aplica para estas condições.

A CCS foi utilizada para monitorar a ocorrência de mastite subclínica das vacas estudadas, o que poderia influenciar a produção e composição do leite. A média da CCS foi menor que 200.000 células/mL em todos os tratamentos. Segundo Aquino et al. (2007), esses resultados são previsíveis, uma vez que a produção de leite foi mantida pelas dietas oferecidas, indicando adequado fornecimento dos nutrientes aos animais.

Segundo Chung et al. (2007), substâncias como os sais e metanol, que são coproduzidos durante a síntese de glicerol, podem influenciar na palatabilidade final do produto. Thompson et al. (2006) citaram que além destas substâncias, o teor de gordura deve ser observado. Se metanol é um contaminante, os níveis devem ser coerentes com os regulamentos federais e estaduais de glicerol de biodiesel para ser considerado aceitável como alimento animal.

Verificou-se que, para utilização da GB na dieta de vacas lactantes, necessita-se de uma adaptação prévia. Donkin et al. (2009) afirmaram que sete dias seriam suficientes, porém, utilizou-se 10 dias neste estudo e verificou-se que, a partir do sétimo dia, todos os animais já estavam consumindo todo o concentrado fornecido.

Considerando que foi utilizado até 389 g de GB/kg de suplemento e que o aumento de produção da indústria do biodiesel está acarretando em elevação da disponibilidade da glicerina, a mesma torna-se um coproduto atrativo para alimentação de vacas lactantes. Isto é ainda mais ressaltado, devido aos preços da glicerina bruta, que atualmente são reduzidos, e menor disponibilidade de milho para alimentação animal provocado pela demanda da indústria de etanol (YAZDANIA & GONZALEZ, 2007; DONKIN et al., 2009).

CONCLUSÕES

Para vacas lactantes primíparas, em pastagem tropical, pode incluir até 389 g de glicerina bruta (171 g de glicerol) por kg do suplemento sem interferências nutricionais e produtivas.

Em regiões que o produtor recebe bonificação por teor de gordura, deve-se realizar uma análise de custo/benefício da utilização da glicerina, pois a mesma promove depressão da gordura. Cuidados devem ser tomados com a perda de peso corporal dos animais para não interferir nos parâmetros reprodutivos.

REFERÊNCIAS

AOAC. 2000. **Official Methods of Analysis**. 17th ed. AOAC Int., Gaithersburg, MD.

AQUINO, A.A.; BOTARO, B.G.; IKEDA, F.S. et al. Efeito de níveis crescentes de uréia na dieta de vacas em lactação sobre a produção e a composição físico-química do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.881-887, 2007.

BAUMGARD, L.H.; CORL, B.A.; DWYER, D.A. et al. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits fat synthesis. **Animal Journal Physiology Regulatory Integrative** , v.278, p.179-184, 2000.

BODARSKI, R.,WERTELECKI, T., BOMMER, F. et al. The changes of metabolic status and lactation performance in dairy cows under feeding tmr with glycerin (glycerol) supplement at periparturient period. **Electronic Journal Polish Agricultural Universities**, v.8, n.4, p.22–30, 2005.

BOYD, J.; WEST, J.W.; BERNARD, J.K. Effects of increasing concentrations of dietary glycerol on ruminal environment and digestibility in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.92, n.1, p.88, Jan. 2009.

CAMPBELL, A.G. Grazed pastures parameters: I. Pasture dry matter production and availability in a stocking rate and grazing management experiment with dairy cows. **Journal of Agriculture Science**, v.67, p.211-216, 1966.

CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ.* **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.2, p.335-342, 2008.

CHUNG, Y.H.; RICO, D.E.; MARTINEZ, C.M. et al. Effects of feeding dry glycerin to early postpartum Holstein dairy cows on lactational performance and metabolic profiles. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.5682–5691, 2007.

DEFRAIN, J.M. et al. Feeding glycerol to transition dairy cows: Effects on blood metabolites and lactation performance. **Journal Dairy Science,** v. 87, p. 4195-4206, 2004.

DETMANN, E. ; VALADARES FILHO. S.C. On the estimation of non-fibrous carbohydrates in feeds and dietas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.4, p.980-984, 2010.

DONKIN, S.S.; DOANE, P. **Glycerol as a Feed Ingredient in Dairy Rations.** In: Three-State Dairy Nutrition Conference. The Ohio State University, Michigan State University, Purdue University. Fort Wayne, IN. p.97-103, 2007.

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

DONKIN, S.S.; PALLATIN, M.R.; DOANE, P.H. et al. Performance of dairy cows fed glycerol as a primary feed ingredient. **Journal of Dairy Science,** v.90 (Suppl. 1), p.350, 2007.

EDMONSON, A.J.; LEAN, I.J.; WEAVER, L.D. et al. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science,** v.72, p.68–78, 1989.

EIFERT, E.C.; LANA, R.P.; LANNA, D.P.D. et al. Perfil de ácidos graxos do leite de vacas alimentadas com óleo de soja e monensina no início da lactação **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.1, p.219-228, 2006.

FISHER, L.J., ERFLE, J.D., SAUER, F.D. Preliminary evaluation of the addition of glucogenic materials to the rations of lactating cows. **Canadian Journal Animal Science**, v.51, p.721–727, 1971.

GARDNER, A.L. **Técnicas de pesquisa em pastagem e aplicabilidade de resultados em sistema de produção**. Brasília: IICA/EMBRAPA, CNPGL. 197p. 1986.

GRIINARI, J.M.; CORI, B.; LACY, S. et al. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by delta-9 desaturase. **Journal of Nutrition**, v.130, p.2285-2291, 2000.

JOHNSON, A.D. Sample preparation and chemical analysis of vegetation. In: t´MANNETJE, L. (Ed.). **Measurement of grassland vegetation and animal production**. Aberystwyth: Commonwealth Agricultural Bureaux, 1978. p.96-102.

LUCCI, C.S.; VALVASORI, E.; PEIXOTO JUNIOR, K. et al. Concentrações de nitrogênio na dieta, no sangue e no leite de vacas lactantes no período pós-parto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.1, p.258-263, 2006.

McMENIMAN, N.P. Methods of estimating intake of grazing animals. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, SIMPÓSIO SOBRE TÓPICOS ESPECIAIS EM ZOOTECNIA, 34., 1997, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1997. p.131-168.

MERTENS, D.R. Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. **Journal of Animal Science**, v.64, p.1548-1558, 1987.

MEYER, P.M.; MACHADO, P.F.; COLDEBELLA, A. et al. Fatores não-nutricionais e concentração de nitrogênio uréico no leite de vacas da raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.1114-1121, 2006 (supl.).

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. Washington: National Research Council, 7. ed., 2001. 381p.

OGBORN, K. L. **Effects of method of delivery of glycerol on performance and metabolism of dairy cows during the transition period.** 2006. MS thesis. Cornell University, Ithaca, NY. 2006.

OLIVEIRA, V.S.; FERREIRA, M.A.; GUIM, A. et al. Substituição total do milho e parcial do feno do capim-tifton por palma forrageira em dietas para vacas em lactação. Produção, composição do leite e custos com alimentação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.928-935, 2007.

OSBORNE, V.R.; ODONGO, N.E.; CANT, J.P. et al. Effects of supplementing glycerol and soybean oil in drinking water on feed and water intake, energy balance, and production performance dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.92, n.2, p.698-707002C 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: SIMFOR, 2006. p.359-392.

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

SHIN, J.H.; KIM, S.C.; WANG, D.; ADESOGAM, A.T.; STAPLES, C.R. Glycerol supplementation for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.92, n.1, p.88, 2009.

SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, D. J.; Van SOEST, P. J.; FOX, D. G.; RUSSEL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 12, p. 3562-3577, 1992.

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

TYRRELL, H.F.; REID, J.J. Prediction of the energy value of cow´s milk. **Journal of Dairy Science**, v.48, p.1215-1223, 1965.

WANG, C.; LIU, Q; YANG, W.Z. et al. Effects of glycerol on lactation performance, energy balance and metabolites in early lactation Holstein dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v.151, p.12–20, 2009.

WILM, H.G.; COSTELLO, D.F.; KLIPPLE, G.E. Estimating forage yield by the double sampling method. **Journal of American Society of Agronomy**, v.36, p.194-203, 1994.

YAZDANI, S.S.; GONZALEZ, R. Anaerobic fermentation of glycerol: a path to economic viability for the biofuels industry. **Current Opinion Biotechnology**, v.18, p.213-219, 2007.

IV - CAPÍTULO II

GLICERINA BRUTA NO SUPLEMENTO DE VACAS PRIMÍPARAS LACTANTES MANTIDAS EM PASTAGEM TROPICAL IRRIGADA: COMPORTAMENTO INGESTIVO

RESUMO: Objetivou-se com este estudo avaliar o comportamento ingestivo de vacas lactantes com níveis de glicerina bruta no suplemento, mantidas em pastagem tropical irrigada. Foram utilizadas 10 vacas lactantes, ¾ Holandesa x ¼ Gir Leiteiro, primíparas, com 109 ± 24 dias de lactação, idade de 30 ± 6 meses e peso corporal de 426,2 ± 68,29 kg, distribuídas em cinco tratamentos, utilizando-se dois quadrados latinos cinco por cinco (5x5). Os tratamentos foram constituídos de níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento (0, 94, 191, 289, 389 g/kg, base matéria seca). A avaliação do comportamento foi realizada no 14º dia de cada período, sendo feitas observações a cada cinco minutos por um período de 24 horas. Os resultados foram analisados estatisticamente por meio de análises de variância e regressão a 0,05 de probabilidade. Para os tempos de pastejo, outras atividades, ruminação, alimentação no cocho, número de períodos de pastejo, outras atividades, ruminação e alimentação no cocho, assim como taxa de bocado, número de mastigações merícicas e tempo por bolo alimentar, e as eficiências de alimentação e ruminação não foram verificadas diferenças entre os níveis de glicerina bruta no suplemento (P>0,05). A inclusão de glicerina bruta no suplemento de vacas lactantes em pastagens tropicais não promove variações no comportamento ingestivo. A ausência de efeitos negativos relacionados ao uso deste coproduto, em substituição ao milho, nestas condições, permite a sua utilização em até 389 g de glicerina bruta por kg de suplemento para vacas leiteiras sem alterar os parâmetros comportamentais relacionados à ingestão de alimentos.

PALAVRAS-CHAVE: bocado, coproduto, glicerol, pastejo, produção de leite

CRUDE GLYCERIN IN SUPPLEMENT TO PRIMIPAROUS LACTATING COWS GRAZING ON TROPICAL IRRIGATED PASTURE: INGESTIVE BEHAVIOR

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate the ingestive behavior of lactating cows with levels of crude glycerin in the supplement, mantained under pasture irrigated tropical. Ten lactating cows, ¾ Holstein x ¼ Gyr Dairy cows, primiparous, and 109 ± 24 days of lactation, age 30 ± 6 months and body weight of 426.2 ± 68.29 kg, distributed into five treatments (5x5), in double latin square design, were used. Treatments consisted of inclusion levels of crude glycerin in the supplemen t(0, 94, 191, 289, 389 g/kg dry matter basis). The behavior evaluation was performed on the 14th day of each period, with observations every five minutes for a period of 24 hours. The results were analyzed statistically using analysis of variance and regression at 0,05 probability. For the grazing time, other activities, rumination, feeding trough, the number of grazing periods, other activities, rumination and feeding trough, as well as bit rate, number and time of chews per bolus, and efficiencies of eating and ruminating were not significant differences among crude glycerin levels in the supplement (P>0.05). The inclusion of crude glycerin in supplements for lactating cows in tropical pastures does not promote changes in ingestive behavior. The absence of negative effects related to the use of this byproduct in substitution of corn in these conditions allows its use in up to 389 g crude glycerin in supplement for dairy cows without changing the behavioral parameters related to food intake.

KEYWORDS: Bit, byproduct, glycerol, grazing, milk production

INTRODUÇÃO

A glicerina é produto da transesterificação de óleos vegetais que, reagindo com um álcool (metanol ou etanol) e catalisada por uma base, forma ácidos graxos metílicos (THOMPSON; HE, 2006) na produção de biocombustíveis. Porém, como todo coproduto, a mesma apresenta variações na qualidade, podendo conter teores de glicerol superiores ou inferiores a 95% (purificada e bruta, respectivamente).

O aumento de produção do biodiesel acarreta em elevação da disponibilidade de glicerina, tornando-a um coproduto disponível para alimentação de bovinos (OSBORNE et al., 2009; NUNES et al., 2010). Devido aos preços reduzidos, pode substituir concentrados energéticos na alimentação, tornando-a atrativa financeiramente.

Vários estudos descreveram a utilização de variáveis comportamentais para nortear a avaliação de dietas (ALLDEN; WHITTAKER, 1970; MISSIO et al., 2010; PEREIRA et al., 2011; SANTANA JÚNIOR et al., 2013b; SANTANA JÚNIOR et al., 2013c). Paralelamente, a ingestão de matéria seca pelas vacas mantidas em pastagens tropicais constitui-se em um dos principais fatores que limitam a produção de leite (FUKUMOTO et al., 2010). Neste contexto, a inclusão da glicerina bruta na dieta pode modificar o comportamento ingestivo dos ruminantes, notadamente em razão de algumas das suas características físicas e químicas. A sua apresentação na forma líquida à temperatura ambiente, como também o seu caráter lipídico, constituem-se em exemplos destas características (SANTANA JÚNIOR et al., 2013a).

Tendo em vista a escassez de trabalhos que abordam a utilização deste coproduto na dieta de ruminantes em pastagens, a avaliação do comportamento ingestivo pode contribuir para o melhor entendimento do uso deste composto para vacas leiteiras.

Objetivou-se com este estudo avaliar o comportamento ingestivo de vacas lactantes com níveis de glicerina bruta no suplemento, mantidas em pastagem tropical irrigada.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Fazenda Rancho Santana, situada em Jequié/BA, localizada a 13° 52' 14'' de latitude Sul, 40° 09' 47'' de longitude Oeste, com altitude média de 260 m. O trabalho de campo foi realizado de 21 de dezembro de 2010 a 16 de março de 2011, implantado numa área de 7600 m^2, dividida em 14 piquetes de aproximadamente 380 m^2 cada, formada com *Brachiaria brizantha* cultivar MG-5, sendo irrigada com aspersão em malha e adubada durante o período experimental com 240 kg de N/ha na forma de ureia. Foram coletados os dados de temperatura, precipitação e irrigação durante o período experimental (Tabela 11). Foi utilizado o sistema de ocupação intermitente de piquetes com ocupação de um dia e 13 dias de descanso.

Tabela 11. Temperatura média, precipitação total e irrigação total durante cada período experimental e a média dos períodos

Item	Período					Média
	1º	2º	3º	4º	5º	
Tmín. à sombra	23,7	22,0	22,9	24,1	22,9	23,1
Tmáx. à sombra	35,4	34,7	37,7	41,7	37,7	37,4
Tmín. ao sol	21,8	20,0	20,3	21,7	20,5	20,9
Tmáx. ao sol	37,8	37,1	40,1	43,1	42,2	40,1
Precipitação (mm)	33	13	52	0	157	51
Irrigação (mm)	170	165	152	180	20	137

1º período: 01/01/2011 a 15/01/2011; 2º período: 16/01/2011 a 30/01/2011; 3º período: 31/01/2011 a 14/02/2011; 4º período: 15/02/2011 a 01/03/2011; 5º período: 02/03/2011 a 16/03/2011. Tmín.- temperatura mínima em graus Celsius; Tmáx.- temperatura máxima em graus Celsius.

Foram utilizadas 10 vacas lactantes, ¾ Holandesa x ¼ Gir Leiteiro, primíparas, com 109 ± 24 dias de lactação, idade inicial de 30 ± 6 meses e peso corporal inicial de 426,2 ± 68,29 kg, sendo distribuídas em cinco tratamentos, em duplo quadrado latino cinco por cinco (5x5). Estes animais foram suplementados com alimentos concentrados para atender às exigências de mantença, crescimento (GPC = 300 g/dia) e produção de

12 litros de leite a 3,5% gordura (NRC, 2001). As dietas foram balanceadas para serem isoenergéticas (60,0% NDT) e isoproteicas (14,4% PB).

Os tratamentos foram constituídos de diferentes níveis de glicerina no suplemento: (0, 94, 191, 289, 389 g/kg, base matéria seca).G0 – Dieta sem inclusão da glicerina no suplemento (controle); G94 – Dieta com 94 g de glicerina bruta por kg de suplemento; G191 – Dieta com 191 g de glicerina bruta por kg de suplemento; G289 – Dieta com 289 g de glicerina bruta por kg de suplemento; G389 – Dieta com 389 g de glicerina bruta por kg de suplemento. A quantidade de suplemento fornecido diariamente em todos os tratamentos foi 4,65 kg de MS. Estimou-se uma relação volumoso:concentrado de 75:25, sendo que a inclusão da glicerina representou uma tendência 0, 45, 90, 135 e 180 g de glicerina bruta por kg da dieta, respectivamente.

O manejo diário das vacas iniciou-se às cinco horas, quando retornavam da pastagem para a realização da primeira ordenha, e a segunda ordenha era iniciada às 16 horas. A ordenha foi realizada de forma mecânica (tipo balde ao pé, modelo fila indiana com fosso). O suplemento com concentrados (Tabela 12) foi fornecido logo após as ordenhas, de forma individual em cocho de polipropileno, com disponibilidade de 100 cm lineares por animal.

Tabela 12. Proporções dos ingredientes e composição bromatológica do suplemento

Item	Nível de glicerina bruta no suplemento (g/kg)				
	G0	G94	G191	G289	G389
Milho grão moído (g/kg MN)	772	653	531	407	281
Farelo de soja (g/kg MN)	201	224	249	274	300
Glicerina bruta (g/kg MN)	---	94	191	289	389
Calcário calcítico (g/kg MN)	9	9	9	9	8
Fosfato bicálcico (g/kg MN)	---	---	---	---	1
Sal mineral[1] (g/kg MN)	20	20	20	20	20

[1]Composição: Cálcio 200 g; fósforo 100 g; sódio 68 g; magnésio 15 g; enxofre 12 g; cobalto 200 mg; cobre 1650 mg; iodo 195 mg; manganês 1960 mg; níquel 40 mg; selênio 32 mg; zinco 6285 mg; ferro 560 mg; flúor (máximo) 1000 mg.

O experimento teve duração de 75 dias, divididos em cinco períodos de 15 dias, sendo 10 dias para adaptação dos animais às dietas experimentais e cinco dias para

coleta de dados.

A pastagem foi avaliada diariamente, utilizando o método de McMeniman (1997), Wilm, Costello e Klipple (1994), Gardner (1986) e Campbell (1966), para a coleta, biomassa residual diária (BRD), biomassa de forragem (disponibilidade) e taxa de acúmulo diário (TAD), respectivamente (Tabela 13).

Tabela 13. Média e desvio-padrão (DP) das características da forragem durante o período experimental

	DTMS[1]	DMSV[1]	MSpd[2]	BRD[3]	TL[4]	TAD[3]	OF[5]	AF[6]	F[2]	C[2]	MM[2]
Média	5367	4187	72	1945	12,5	263	39	52	380	520	100
DP	±1243	±745	±5	±206	±0,2	±47	±8	±2	±5	±6	±2

[1]Expresso em kg/ha; [2]Expresso em %; [3]Expresso em kg MS/ha/dia; [4]Expresso em UA/ha; [5]Expresso em kg MS/100 kg PC/dia; [6]Expresso em cm. DTMS - disponibilidade total de matéria seca; DMSV – disponibilidade de matéria seca verde; MSpd –matéria seca potencialmente digestível; BRD - biomassa residual diária; TL - taxa de lotação; TAD - taxa de acúmulo diário; OF - oferta de forragem; AF - altura da forragem; F – folha; C – colmo; MM – matéria morta.

A taxa de lotação (TL) foi calculada considerando a unidade animal (UA, 450 kg PC). A oferta de forragem (OF) foi calculada de acordo com a seguinte fórmula: OF = {(BRD*área + TAD*área)/PC_{total}}*100, em que: OF = oferta de forragem, em kg MS/100 kg PC/dia; BRD = biomassa residual total, em kg de MS/ha/dia; TAD = taxa de acúmulo diário, em kg MS/ha/dia; PC = peso corporal total dos animais, em kg/ha.

Foi calculado a MS potencialmente digestível (MSpd) da pastagem, conforme descrito por Paulino; Detmann e Valadares Filho (2006), pela equação: MSpd = 0,98 * (100 – %FDN) + (%FDN – %FDNi). Foi mensurada a altura comprimida da forragem utilizando uma régua graduada, com o auxílio de uma folha plástica transparente, em todos os pontos de coleta de forragem. Durante o período de coleta (últimos cinco dias de cada período), foram coletadas as amostras do pastejo simulado, que foram obtidas por meio de observação dos animais experimentais, identificando-se o tipo de material consumido e coletando-se uma amostra semelhante ao alimento ingerido (JOHNSON, 1978).

O consumo de MS (Tabela 14) foi obtido por meio da seguinte equação: CMS = {[(PF*CIFZ) – IS]/CIFR} + CMSS, em que CMS é o consumo de matéria seca

(kg/dia); PF é a produção fecal (kg/dia); CIFZ concentração do indicador presente nas fezes (kg/kg); IS é o indicador presente no suplemento (kg/dia); CIFR é a concentração do indicador presente na forragem (kg/kg); e o CMSS que é o consumo de matéria seca do suplemento (kg/dia), por meio do indicador externo, LIPE® (Lignina isolada e purificada de eucalipto) e indicador interno, fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) conforme Casali et al. (2008).

Tabela 14. Consumo diário de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento

Item	Nível de glicerina bruta					CV[1]
	G0	G94	G191	G289	G389	
CMSS (kg)	4,65	4,65	4,65	4,65	4,65	
CMSF (kg)	9,59	8,63	8,52	8,74	9,55	13,7
CMST (kg)	14,24	13,28	13,17	13,40	14,20	9,1
CFDN (kg)	7,06	6,37	6,34	6,48	7,01	12,2
CMO (kg)	13,77	12,77	12,65	12,77	13,58	9,4
CCNF (kg)	3,90	3,80	3,75	3,73	3,82	3,8
CPB (kg)	2,05	1,91	1,90	1,93	2,04	8,5
CNDT (kg)	8,41	7,97	7,99	8,12	8,56	11,6

[1] Coeficiente de variação (CV, %). CMSS – consumo de MS do suplemento; CMSF – consumo de MS da forragem; CMST – consumo de MS total; CFDN - consumos de fibra em detergente neutro; CCNF – consumo de carboidratos não fibrosos; CPB – consumo de proteína bruta; CNDT – consumo de nutrientes digestíveis totais.

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Fitotecnia e Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, *Campus* de Vitória da Conquista/BA. As amostras do concentrado, do pastejo simulado (Tabela 15) e das fezes foram pré-secadas em estufa de ventilação forçada a 55 ºC, por 72 horas. O teor de matéria seca, proteína bruta, matéria mineral e extrato etéreo foram analisados de acordo com AOAC (2000). Foram analisadas as fibras em detergente neutro e ácido, pelo método sequencial de Van Soest, Robertson e

Lewis (1991), utilizando o analisador de fibras Ankom 200, e corrigido para cinza e proteína de acordo com Hall (2003).

Tabela 15. Composição bromatológica de amostras da forragem coletada por meio do pastejo simulado nos respectivos períodos experimentais.

Item	Período					Média
	1º	2º	3º	4º	5º	
MS[1]	298,5	320,4	306,9	251,1	323,5	300,1
MO[2]	916,7	896,4	906,5	907,3	909,2	907,2
FDNcp[2]	614,1	643,8	615,8	623,9	617,6	623,0
FDA[2]	374,0	377,7	355,8	366,0	376,3	369,9
PB[2]	132,8	143,2	137,4	132,1	144,9	133,4
CNF[2]	139,6	70,0	128,6	109,0	127,2	114,9

[1]Expresso em g/kg; [2]Expresso em g/kg da matéria seca. MS - matéria seca; MO – matéria orgânica; FDNcp - fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína; FDA - fibra em detergente ácido PB - proteína bruta; CNF - carboidratos não-fibrosos.

Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram obtidos por intermédio da equação: 100 - (%PB + %EE + %Cinza + %FDNcp) (SNIFFEN et al., 1992). Os teores de nutrientes digestíveis totais (NDT) foram obtidos de acordo com Weiss (1999), pela equação: NDT= PBD + FDNcpD + CNFD + (2,25 x EED), em que PBD, FDNcpD, CNFD e EED significam, respectivamente, consumos de PB, FDNcp, CNF e EE digestíveis.

Os teores de proteína bruta, matéria mineral e água da glicerina bruta foram obtidos pelos mesmos procedimentos realizados para as análises de alimentos (Tabela 16). O teor de glicerol, ácidos graxos totais e metanol foram obtidos por cromatografia gasosa em cromatógrafo a gás modelo CG 17ª, marca SHIMADZU com detector FID. A amostra foi colocada em um funil de separação de 250 mL e extraída com um volume de 25 mL de Etanol/Água 50:50. Agitaram-se várias vezes e, em seguida, deixou em repouso por uma hora. Foram formadas duas fases, recolhendo a fase inferior e injetou-a no cromatógrafo. Foi utilizada coluna capilar carbowax (30 m x 0,25 mm). Para a separação cromatográfica, 1 µL de amostra foi injetada com o auxílio de seringa de 10 µL (Hamilton®) sistema Split = 10. O gás nitrogênio foi utilizado como carreador com

velocidade linear programada para 26,4 cm/s e os gases hidrogênio e ar sintético formaram a chama no detector. As temperaturas do ingetor e do detector foram de 280ºC e 300ºC, respectivamente. A temperatura inicial da coluna foi de 40ºC (mantida por 7 minutos), aumentando em 2ºC/minuto até atingir 80ºC e 6ºC/minuto até atingir 240ºC (mantida por 40 minutos), totalizando 93 minutos de análise. O fluxo do gás de arraste na coluna foi de 1,09 mL/nimuto. A identificação dos compostos foi realizada através do tempo de retenção do padrão correspondente.

Tabela 16. Composição físico-química da glicerina bruta

Item	Teor
Água (g/kg MN)	90
Glicerol (g/kg MS)	482
Metanol (g/kg MS)	66
Ácidos graxos totais (g/kg MS)	369
Proteína bruta (g/kg MS)	2
Matéria mineral (g/kg MS)	80
Densidade (g/cm^3)	0,95

A avaliação do comportamento foi realizada no 14º dia de cada período, totalizando cinco avaliações, cujas observações foram feitas a cada cinco minutos, conforme Gary, Sherritt e Hale (1970), por um período de 24 horas, a fim de identificar o tempo destinado ao pastejo, ruminação, alimentação no cocho e outras atividades. Os animais foram avaliados visualmente, por dois observadores treinados e posicionados estrategicamente, de forma a não influenciar o comportamento dos animais. Foram utilizados relógios digitais para cronometrar o tempo utilizado para cada atividade.

As variáveis comportamentais estudadas foram: tempo de pastejo (PAS), tempo de ruminação (RUM), tempo de alimentação no cocho (COC) e tempo em outras

atividades (OUT). As atividades comportamentais foram consideradas mutuamente excludentes, conforme definição de Pardo et al. (2003).

O tempo gasto pelos animais na seleção e apreensão da forragem, incluindo os curtos espaços de tempo utilizados no deslocamento para seleção da forragem foi considerado tempo de pastejo. O tempo de ruminação correspondeu aos processos de regurgitação, remastigação, reinsalivação e redeglutição. O tempo de alimentação no cocho foi o tempo despendido pelo animal no consumo de suplemento, e o tempo em outras atividades (descanso, consumo de água, interações dentre outros), foram todas as atividades com exceção das citadas acima.

O tempo de alimentação total (TAT) e de mastigação total (TMT) foi determinado pelas equações abaixo: TAT = PAS + COC, em que: PAS (minutos) = tempo de pastejo; COC (minutos) = tempo de alimentação no cocho; TMT = PAS + RUM + COC, em que: PAS (minutos) = tempo de pastejo; RUM (minutos) = tempo de ruminação; COC (minutos) = tempo de alimentação no cocho.

A discretização das séries temporais foi realizada diretamente nas planilhas de coleta de dados, com a contagem dos períodos discretos de pastejo, ruminação, outras atividades e alimentação no cocho. A duração média de cada um dos períodos discretos foi obtida pela divisão dos tempos diários de cada uma das atividades pelo número de períodos discretos da mesma atividade. Foram calculados as eficiências de alimentação, em gramas por hora, da MS, FDN, NDT, CNF e PB e eficiência de ruminação da MS e FDN, em que o consumo dos mesmos foi dividido pelo tempo de alimentação total (eficiência de alimentação) ou pelo tempo de ruminação (eficiência de ruminação).

Foram realizadas, ainda, observações em dois turnos do dia (manhã e tarde), e com três repetições por período (BURGER et al., 2000), a fim de determinar o número de mastigações merícicas por bolo ruminado (MMB) e o tempo gasto para ruminação de cada bolo (TBo).

As variáveis número de bolo ruminado por dia (BOL), velocidade de mastigação (VeM), tempo por mastigação merícica (TeM) e mastigações merícicas por dia (MMnd) foram calculadas pelas equações abaixo: BOL = RUM / TBo, em que: BOL (número por dia); RUM (segundos/dia) - tempo de ruminação; TBo (segundos) - tempo por bolo ruminado; VeM = MMB / TBo, em que: VeM (segundos); MMB - número de mastigações merícicas por bolo; TBo (segundos) - tempo por bolo ruminado;

TeM = TBo / MMB, em que: TeM (segundos); TBo (segundos) - tempo por bolo ruminado; MMB - número de mastigações merícicas por bolo; MMnd = BOL * MMB, em que: MMnd (número por dia); BOL - número de bolos ruminados por dia; MMB - número de mastigações merícicas por bolo.

Durante os mesmos períodos de avaliação do comportamento animal, quando os animais estiveram em atividade de pastejo a mais de 30 minutos, foi registrada a taxa de bocado (TxB) dos animais de cada tratamento, estimada por meio do tempo gasto pelo animal para realizar 20 bocados (HODGSON, 1982). Para o cálculo da massa de bocado em MS (MaB_{MSF}) e MO (MaB_{MOF}), foi dividido o consumo diário de MS da forragem ou o consumo de MO da forragem pelo total de bocados diários (JAMIESON; HODGSON, 1979).

Também foi avaliado o número de bocados e o tempo entre duas deglutições. Os resultados das observações de bocados e deglutição foram registrados em seis ocasiões durante o dia, conforme Baggio et al. (2009), sendo três avaliações durante a manhã e três à tarde, e usados também para determinar o número de bocados por dia (NBD), que é o produto da multiplicação entre taxa de bocado e tempo de pastejo.

Em todas as variáveis comportamentais, um animal representou uma unidade experimental. Os dados foram analisados estatisticamente por meio de análises de variância e regressão a 5 % de probabilidade, com o auxílio do programa SAEG (versão 9.1). O modelo estatístico utilizado foi $Y_{ij(k)} = m + L_i + C_j + t_k + e_{ij(k)}$, sendo: $Y_{ij(k)}$ - o valor observado para a variável em estudo referente ao k-ésimo tratamento, na i-ésima linha e na j-ésima coluna; m – média de todas as unidades experimentais para a variável em estudo; Li - efeito da linha i; C_j – efeito da coluna j + t_k - efeito do tratamento k; e_{ijk} – erro experimental.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para os tempos de pastejo, outras atividades, ruminação e alimentação no cocho, não foram verificadas diferenças entre os níveis de glicerina bruta (GB) no suplemento (P>0,05) (Tabela 17). Na literatura, alguns fatores são citados como responsáveis pelas variações no tempo de pastejo (PAS), como nível de suplemento (MACARI et al., 2007; BREMM et al., 2008), estrutura do dossel forrageiro (REGO et al., 2006; PALHANO et al., 2007; ÍTAVO et al., 2008; BAGGIO et al., 2009; ZANINE et al., 2009; TEIXEIRA et al., 2010, 2011) e teor de fibra em detergente neutro (SANTOS et al., 2006). Zanine et al. (2009), avaliando o comportamento ingestivo de vacas Girolando consumindo duas forrageiras, encontraram média de 562 minutos de pastejo em *Brachiaria brizantha*. Entretanto, a média encontrada neste estudo foi inferior (446 minutos) a esta, provavelmente devido ao fornecimento de suplemento concentrado, que acarreta em diminuição do tempo de pastejo (BREMM et al., 2008).

A semelhança estatística para a ruminação entre os níveis de glicerina bruta (GB) foi consequência do consumo semelhante de fibra em detergente neutro presente nas dietas (Tabela 13). O tempo utilizado para a alimentação no cocho está diretamente associado com a quantidade de suplemento concentrado fornecido. Sendo assim, os resultados próximos entre os níveis de glicerina bruta encontrado neste estudo podem ser explicados pelo fornecimento de quantidades iguais de concentrados nas dietas experimentais.

Considerando que as atividades comportamentais são mutuamente excludentes, a ausência de efeito entre os níveis de glicerina no tempo de pastejo (PAS), tempo de ruminação (RUM) e tempo de alimentação no cocho (COC) acarretou em tempos de outras atividades semelhantes para as cinco dietas.

O tempo de alimentação total (TAT) compreende o somatório entre as atividades de ingestão (PAS e COC), enquanto o tempo de mastigação total (TMT) consiste no conjunto de atividades mastigatórias (PAS, RUM e COC), sendo que o tempo de pastejo (PAS) e tempo de alimentação no cocho (COC) estão relacionados às funções de apreensão da forragem e insalivação do conteúdo de concentrado, e o tempo de ruminação (RUM) para diminuição das partículas ingeridas. Por conseguinte, não havendo diferenças entre os níveis de glicerina bruta para as variáveis PAS, RUM e

COC, também não influíram sobre o tempo de alimentação total (TAT) e o tempo de mastigação total (TMT).

Tabela 17. Comportamento ingestivo de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento

Item	Nível de glicerina bruta no suplemento					CV[1]	ER[2]
	G0	G94	G191	G289	G389		
PAS (min.)	439	453	461	441	435	12,8	$\hat{Y} = 446$
OUT (min.)	472	469	489	508	487	13,8	$\hat{Y} = 485$
RUM (min.)	491	489	463	464	492	14,2	$\hat{Y} = 480$
COC (min.)	37	28	27	26	26	43,0	$\hat{Y} = 29$
TAT (min.)	476	482	488	467	460	13,0	$\hat{Y} = 475$
TMT (min.)	967	971	951	932	953	7,0	$\hat{Y} = 955$

[1] Coeficiente de variação (CV, %). [2] Equação de regressão (ER). PAS – tempo de pastejo; OUT – tempo de outras atividades; RUM – tempo de ruminação; COC – tempo de alimentação no cocho; TAT – tempo de alimentação total; TMT – tempo de mastigação total.

A glicerina bruta é um coproduto de menor valor comercial que o milho, principal fonte de energia usada na suplementação alimentar de ruminantes com concentrados, contudo, o milho é uma fonte de amido e a glicerina é uma fonte de glicerol, sendo que os mesmos apresentam metabolização diferenciada. Sendo assim, a semelhança no comportamento ingestivo entre as dietas contendo quantidades crescentes de glicerina bruta é desejável, pois a utilização do coproduto não deve comprometer o comportamento alimentar dos animais em pastejo, nem tampouco o funcionamento adequando do seu processo digestivo. Por isso, as similaridades encontradas para os parâmetros nutricionais e produtivos nessas dietas, comparadas com a que contém somente milho como fonte energética, é um importante indicativo da ausência de efeito deletério da inclusão da glicerina bruta nas dietas de vacas leiteiras sob pastejo.

Para o número de períodos de pastejo (NPP), outras atividades (NPO), ruminação (NPR) e alimentação no cocho (NPC), não foram observadas diferenças entre os níveis de GB (P>0,05) (Tabela 18). Verificou-se que os valores de consumos de MS da forragem foram próximos (8,52 a 9,59 kg/dia), os consumos de MS do

suplemento foram de 4,65 kg/dia e os consumos de fibra em detergente neutro de 6,34 a 7,06 kg/dia entre as dietas testadas. A inexistência de efeito significativo para o número de períodos das atividades alimentares, provavelmente, deveu-se ao fato de estarem relacionados à extensão destes períodos, que está associada ao tempo despendido com a atividade.

O tempo despendido por período de pastejo (TPP), outras atividades (TPO) e ruminação (TPR) foram semelhantes entre os tratamentos em estudo (P>0,05). O tempo por período correspondeu ao quociente entre o tempo gasto na atividade pelo número de períodos na mesma atividade, sendo assim, a justificativa para a semelhança entre as dietas decorreu da ausência de efeito nos tempos e períodos das atividades.

Tabela 18. Períodos discretos do comportamento ingestivo de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento

Item	Nível de glicerina bruta no suplemento					CV[1]	ER[2]
	G0	G94	G191	G289	G389		
NPP	9,4	11,2	9,5	9,9	10,0	20,8	$\hat{Y} = 10,0$
NPO	20,6	22,4	20,6	20,5	21,2	13,8	$\hat{Y} = 21,1$
NPR	14,2	15,4	14,7	14,0	14,5	16,2	$\hat{Y} = 14,6$
NPC	2,0	2,1	2,0	2,2	2,1	18,4	$\hat{Y} = 2,1$
TPP (min.)	50,6	42,6	49,2	46,2	44,7	28,5	$\hat{Y} = 46,7$
TPO (min.)	23,3	21,5	23,7	25,1	22,9	17,5	$\hat{Y} = 23,3$
TPR (min.)	37,8	32,2	31,9	33,4	34,4	28,2	$\hat{Y} = 34,0$
TPC (min.)	18,4	13,1	13,4	11,2	11,6	31,5	3

[1] Coeficiente de variação (CV, %). [2] Equação de regressão (ER). [3] $\hat{Y} = 17,879 - 0,0424x + 0,00007x^2$ ($R^2 = 0,89$). NPP - número de período de pastejo; NPO – número de período de outras atividades; NPR – número de período de ruminação; NPC – número de período de alimentação no cocho; TPP – tempo por período de pastejo; TPO – tempo por período de outras atividades; TPR – tempo por período de ruminação; TPC – tempo por período de alimentação no cocho.

O tempo gasto por período de alimentação no cocho (TPC) apresentou efeito quadrático entre os níveis de glicerina no suplemento (P<0,05). Tendo em vista que os ingredientes mais utilizados na alimentação de vacas leiteiras como o milho grão moído

e farelo de soja encontram-se na forma sólida, a característica da glicerina é peculiar, pois é um ingrediente líquido. Portanto, na mistura com os demais ingredientes utilizados no presente estudo (milho grão moído, farelo de soja, fosfato bicálcico, calcário calcítico e sal mineral), a mistura do ingrediente líquido com os demais na forma de sólidos formou um composto mais adensado e menos pulverulento, o que provavelmente promoveu elevação na velocidade de consumo e consequente diminuição do tempo gasto por período de alimentação no cocho. Porém, a partir do nível 161g de glicerina por kg da dieta, ocorreu o efeito oposto, quando a mistura tornou-se muito pastosa e mais liquefeita, dificultando o consumo pelo animal e elevando o tempo gasto por período de alimentação no cocho.

A taxa de bocado (TxB) apresentou semelhança entre os tratamentos (P>0,05) (Tabela 19). A média encontrada no presente estudo (0,86 bocados/seg.) está relativamente próxima dos valores encontrados por Zanine et al. (2009) que, em estudo com vacas Girolando em *Brachiaria brizantha,* relataram 0,69 bocados/seg. Independente disso, o acréscimo da glicerina nos suplementos não influenciou este parâmetro.

Tabela 19. Aspectos dos bocados do comportamento ingestivo de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento

Item	Nível de glicerina bruta no suplemento					CV[1]	ER[2]
	G0	G94	G191	G289	G389		
TxB (nº/seg.)	0,88	0,87	0,83	0,82	0,93	12,7	$\hat{Y}$ = 0,86
MaB (g MS)	0,32	0,26	0,25	0,26	0,33	18,3	3
MaB (g MO)	0,31	0,26	0,24	0,25	0,32	18,5	4
BDe (nº)	41,6	39,2	36,4	32,2	41,6	20,1	$\hat{Y}$ = 38,2
TDe (seg.)	47,0	45,6	44,5	40,0	46,2	19,6	$\hat{Y}$ = 44,7
NBD	30155	31276	33512	33022	28748	14,4	$\hat{Y}$ = 31342

[1] Coeficiente de variação (CV, %). [2] Equação de regressão (ER). [3]$\hat{Y} = 0,3195 - 0,0008x + 0,000002x^2$ (R^2 = 0,99); [4]$\hat{Y} = 0,3122 - 0,0008x + 0,000002x^2$ (R^2 = 0,99). TxB - Taxa de bocados; MaB - massa do bocado; BDe - número de bocados entre duas deglutições consecutivas; TDe - tempo entre duas deglutições; NBD - número de bocados por dia.

A massa de bocado (MaB), tanto em termos de MS ou MO, apresentou efeito quadrático com a inclusão da glicerina bruta no suplemento (P<0,05). De acordo com a equação encontrada, o menor valor de MaB em MS é 8,7%, e em MO 8,65% de inclusão de glicerina bruta. A explicação deste efeito pode estar relacionada à taxa de passagem, pois um dos fatores físicos que estimulam o consumo em ruminantes é a diminuição do conteúdo alimentar no trato gastrointestinal. Talvez o aumento do nível de glicerina tenha influenciado negativamente a degradabilidade ruminal da fibra (ROGER et al., 1992), ocasionando redução da ingestão com o aumento da participação deste composto nas dietas.

As médias de número de bocados entre duas deglutições consecutivas (BDe), o tempo entre duas deglutições (TDe) e o número de bocados por dia (NBD) não apresentaram diferenças entre os níveis de glicerina em estudo. Talvez, devido ao fato de os animais receberem suplementação concentrada, acarretando, assim, menor necessidade de ingestão da forragem para atendimento da exigência nutricional, reflete-se ao menor número de bocados efetuados ao decorrer do dia.

O número de mastigações merícicas por bolo (MMB) e o tempo por bolo (TBo) foram semelhantes entre os níveis de glicerina (P>0,05) (Tabela 20). Essas variáveis podem ser consideradas um detalhamento do tempo de ruminação (RUM), pois a variação deste pode ser provocada pela alteração de uma destas variáveis. Da mesma forma que o efeito encontrado no tempo de ruminação (RUM), a semelhança no consumo de fibra em detergente neutro entre os níveis de glicerina também proporcionou semelhanças para número de mastigações merícicas por bolo (MMB) e tempo gasto para ruminação de cada bolo (TBo).

A velocidade de mastigação (VeM), tempo de mastigação (TeM), número de mastigações merícicas por dia (MMnd) e número de bolos por dia (BOL) apresentaram-se semelhantes entre os níveis de glicerina no suplemento (P>0,05). Observou-se que variáveis calculadas são dependentes das variáveis que compõem sua equação, sendo, assim, a semelhança no tempo de ruminação (RUM), no número de mastigações merícicas por bolo (MMB) e no tempo gasto para ruminação de cada bolo (TBo) promoveram semelhanças também nas demais variáveis estudadas (VeM, TeM, MMnd e BOL).

Tabela 20. Aspectos da ruminação do comportamento ingestivo de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento

Item	Nível de glicerina bruta no suplemento					CV[1]	ER[2]
	G0	G94	G191	G289	G289		
MMB (nº)	48,0	45,7	49,5	48,6	46,6	14,5	$\hat{Y} = 47,7$
TBo (seg.)	43,5	44,0	46,4	45,6	44,5	14,5	$\hat{Y} = 44,8$
VeM (nº/seg.)	1,10	1,05	1,08	1,06	1,06	10,5	$\hat{Y} = 1,07$
TeM (seg.)	0,91	0,96	0,94	0,95	0,96	11,6	$\hat{Y} = 0,94$
MMnd (nº)	26907	28096	26077	26523	28203	16,7	$\hat{Y} = 27161$
BOL (nº)	685	685	613	622	673	17,2	$\hat{Y} = 656$

[1] Coeficiente de variação (CV, %). [2] Equação de regressão (ER). MMB – número de mastigações merícicas por bolo; TBo - tempo por bolo ruminado ; VeM - velocidade de mastigação; TeM - tempo por mastigação; MMnd - número de mastigações merícicas por dia; BOL - número de bolos ruminados por dia.

A eficiência de alimentação (Tabela 21) representa a velocidade de ingestão dos nutrientes em função do tempo, acarretando em maior disponibilidade dos mesmos para a digestão. Já a eficiência de ruminação de animais consumindo pastagens está associada ao grau de lignificação que se encontra a mesma, sendo necessário maior tempo de ruminação para pastagem mais lignificada, diminuindo, assim, a eficiência nutricional.

Não foi verificado efeito para as eficiências de alimentação e ruminação entre os níveis de glicerina no suplemento (P>0,05), sendo possivelmente, consequência do consumo e do tempo gasto nestas atividades.

Tabela 21. Eficiências do comportamento ingestivo de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento

Item	Nível de glicerina bruta no suplemento (g/kg)					CV[1]	ER[2]
	G0	G94	G191	G289	G389		
Eficiências de alimentação (g/min)							
EAMS	29,86	27,36	26,91	28,50	31,12	13,3	$\hat{Y}$ = 28,74
EAFDN	14,79	13,01	12,81	13,68	15,31	14,8	$\hat{Y}$ = 13,92
EANDT	17,52	16,34	16,42	17,05	18,65	15,8	$\hat{Y}$ = 17,20
EACNF	8,17	7,93	7,77	7,98	8,33	12,6	$\hat{Y}$ = 8,03
EAPB	4,36	4,01	3,95	4,18	4,55	13,0	$\hat{Y}$ = 4,21
Eficiências de ruminação (g/min)							
ERMS	29,07	26,71	28,00	28,46	28,71	18,3	$\hat{Y}$ = 28,39
ERFDN	14,42	12,68	13,35	13,67	14,61	20,6	$\hat{Y}$ = 13,75

[1] Coeficiente de variação (CV, %). [2] Equação de regressão (ER). EAMS – eficiência de alimentação de matéria seca; EAFDN - eficiência de alimentação de fibra em detergente neutro; EANDT - eficiência de alimentação dos nutrientes digestíveis totais; EACNF – eficiência de alimentação de carboidratos não fibrosos; EAPB - eficiência de alimentação de proteína bruta; ERMS – eficiência de ruminação de matéria seca; ERFDN - eficiência de ruminação de fibra em detergente neutro.

CONCLUSÕES

A inclusão de glicerina bruta no suplemento de vacas lactantes em pastagem tropical não promove variações no comportamento ingestivo. A ausência de efeitos negativos relacionados ao uso deste coproduto em substituição ao milho permite a sua utilização em até 389 g de glicerina bruta (171 g de glicerol) por kg de suplemento para vacas lactantes primíparas, sem alterar os parâmetros comportamentais relacionados à ingestão de alimentos.

REFERÊNCIAS

ALLDEN, F.; WHITTAKER, A. M. The determinants of herbage intake by grazing sheep: the interrelationship of factors influencing herbage intake and availability. *Australian Journal of Agricultural Research*, Victoria, v. 21, p. 755-764, 1970.

ALLEN, M. S. Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. Jou*rnal of Animal Science*, Champaign, v. 74, p. 3063-3075, 1996.

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

BAGGIO, C.; CARVALHO, P. C. F.; SILVA, J. L. S.; ANGHINONI, I.; LOPES, M. L. T.; THUROWET. Padrões de deslocamento e captura de forragem por novilhos em pastagem de azevém-anual e aveia-preta manejada sob diferentes alturas em sistema de integração lavoura-pecuária. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 38, n. 2, p. 215-222, 2009.

BREMM, C.; ROCHA, M. G.; FREITAS, F. K.; MACARI, S.; ELEJALDE, D. A. G.; ROSO, D. Comportamento ingestivo de novilhas de corte submetidas a estratégias de suplementação em pastagens de aveia e azevém. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 37, n. 7, p. 1161-1167, 2008.

BURGER, P. J.; PEREIRA, J. C.; QUEIROZ, A. C.; SILVA, J. F. C.; VALADARES FILHO, S. C.; CECON, P. R.; CASALI, A. D. P. Comportamento ingestivo de bezerros holandeses alimentados com dietas contendo diferentes níveis de concentrado. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 29, n. 1, p. 236-242, 2000.

CAMPBELL, A. G. Grazed pastures parameters: I. Pasture dry matter production and availability in a stocking rate and grazing management experiment with dairy cows. *Journal of Agricultural Science*, Toronto, v. 67, p. 211-216, 1966.

CASALI, A. O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C.; PEREIRA, J. C.; HENRIQUES, L. T. FREITAS, S. G.; PAULINO, M. F. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ. Revista Brasileira de Zootecnia,* Viçosa, v. 37, n. 2, p. 335-342, 2008.

FUKUMOTO, N. M.; DAMASCENO, J. C.; DERESZ, F.; MARTINS, C. E.; COSER, A. C.; SANTOS, G. T. Produção e composição do leite, consumo de matéria seca e taxa de lotação em pastagens de gramíneas tropicais manejadas sob lotação rotacionada. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 39, n. 7, p. 1548-1557, 2010.

GARDNER, A. L. *Técnicas de pesquisa em pastagem e aplicabilidade de resultados em sistema de produção*. Brasília: IICA/EMBRAPA, CNPGL. 1986. 197 p.

GARY, L. A.; SHERRITT, G. W.; HALE, E. B. Behavior of charolais cattle on pasture. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.30, n.2, p.303- 306, 1970.

HALL, M. B. Challenges with non-fiber carbohydrate methods. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 81, n. 12, p. 3226-3232, 2003.

HODGSON, J. Ingestive behavior. In: LEAVER, J. D. (Ed.). *Herbage intake handbook*. Hurley: British Grassland Society, 1982. 113 p.

ÍTAVO, L. C. V.; SOUZA, S. R. M. B. O.; RÍMOLI, J.; ÍTAVO, C. C. B. F.; DIAS, A. M. Comportamento ingestivo diurno de bovinos em pastejo contínuo e rotacionado. *Archivos de Zootecnia*, Cordoba, v. 57, n. 217, p. 43-52, 2008.

JAMIESON, W. S.; HODGSON, J. The effect of variation in sward characteristics upon the ingestive behavior and herbage intake of calves and lambs under continuous stocking management. *Grass and Forage Science,* Malden, v. 34, n. 4, p. 273-281, 1979.

JOHNSON, A. D. Sample preparation and chemical analysis of vegetation. In: t´MANNETJE, L. (Ed.). *Measurement of grassland vegetation and animal production*. Aberystwyth: Commonwealth Agricultural Bureaux, 1978. p. 96-102.

MACARI, S.; ROCHA, M. G.; POTTER, L.; ROMAN, J.; BREMM, C.; COSTA, V. G. Comportamento ingestivo diurno de novilhas de corte recebendo níveis de suplemento. *Ciência Rural,* Santa Maria, v. 37, n. 6, p. 1746-1752, 2007.

McMENIMAN, N. P. Methods of estimating intake of grazing animals. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, SIMPÓSIO SOBRE TÓPICOS ESPECIAIS EM ZOOTECNIA, 34., 1997, Juiz de Fora. *Anais...* Juiz de Fora: Sociedade Brasileira de Zootecnia, Juiz de Fora, 1997. p. 131-168.

MISSIO, R. L.; BRONDANI, I. L.; ALVES FILHO, D. C.; SILVEIRA, M. F.; FREITAS, L. S.; RESTLE, J. Comportamento ingestivo de tourinhos terminados em confinamento, alimentados com diferentes níveis de concentrado na dieta. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 39, n. 7, p. 1571-1578, 2010.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. *Nutrient requirements of dairy cattle*. 7. ed. Washington: National Research Council, 2001. 381 p.

NUNES, A. S.; OLIVEIRA, R. L.; AYRES, M. C. C.; BAGALDO, A. R.; GARCEZ NETO, A. F.; BARBOSA, L. P. Condição hepática de cordeiros mantidos com dietas contendo torta de dendê proveniente da produção de biodiesel. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 39, n. 8, p. 1825-1831, 2010.

OSBORNE, V. R.; ODONGO, N. E.; CANT, J. P.; SWANSON, K. C.; McBRIDE, B. W. Effects of supplementing glycerol and soybean oil in drinking water on feed and water intake, energy balance, and production performance dairy cows. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 92, n. 2, p. 698-707, 2009.

PALHANO, A. L.; CARVALHO, P. C. F.; DITTRICH, J. R.; MORAES, A.; SILVA, S. C.; MONTEIRO, A. L. G. Características do processo de ingestão de forragem por novilhas holandesas em pastagens de capim-mombaça. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 36, n. 4, p. 1014-1021, 2007.

PARDO, R. M. P.; FISCHER, V.; BALBINOTTI, M.; ZANELA, M. B.; MORENO, C. B.; FERREIRA, E. X.; VINHAS, R. I.; MONKS, P. L. Comportamento ingestivo diurno de novilhos em pastejo a níveis crescentes de suplementação energética. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 32, n. 6, p. 1408-1418, 2003.

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

PEREIRA. E. S.; PIMENTEL, P. G.; CARNEIRO, M. S. S.; MIZUBUTI, I. Y.; RIBEIRO, E. L. A.; ROCHA JUNIOR, J. N.; COSTA, M. R. G. F. Comportamento ingestivo de vacas em lactação alimentadas com ração a base de torta de girassol. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 32, n. 3, p. 1201-1210. 2011.

REGO, F. C. A.; DAMASCENO, J. C.; FUKUMOTO, N. M.; CORTES, C.; HOESHI, L.; MARTINS, E. N.; CECATO, U. Comportamento ingestivo de novilhos mestiços em pastagens tropicais manejadas em diferentes alturas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 35, n. 4, p. 1611-1620, 2006.

ROGER, V.; FONTY, G.; ANDRE, C.; GOUET, P. Effects of glycerol on the growth, adhesion and cellulotytic activity of rumen cellulolytic bacteria and anaerobic fungi. *Current Microbiology*, v. 25, n. 4, p. 197-201, 1992.

SANTANA JÚNIOR, H. A.; FIGUEIREDO, M. P.; CARDOSO, E. O.; MENDES, F. B. L.; ABREU FILHO, G.; PINHEIRO, A. A.; VIANA, P. T.; ROSEIRA, J. P. S. Crude glycerin in supplement to primiparous lactating cows grazing on tropical pasture: nutritional and productive characteristics. *Revista Brasileira de Zootecnia,* Viçosa, v. 42, n. 2, p. 117-124, 2013a.

SANTANA JÚNIOR, H. A.; SILVA, R. R.; CARVALHO, G. G. P.; CARDOSO, E. O.; MENDES, F. B. L.; PINHEIRO, A. A.; ABREU FILHO, G.; DIAS, D. L. S.; BARROSO, D. S.; SILVA, F. F.; TRINDADE JÚNIOR, G. Comportamento ingestivo de novilhas suplementadas a pasto sob nutrição compensatória. *Archivos de Zootecnia,* Cordoba, v. 62, n. 237, p. 61-71, 2013b.

SANTANA JÚNIOR, H. A.; SILVA, R. R.; CARVALHO, G. G. P.; SILVA, F. F.; BARROSO, D. S.; PINHEIRO, A. A.; ABREU FILHO, G.; CARDOSO, E. O.; DIAS, D. L. S.; TRINDADE JÚNIOR, G. Correlação entre desempenho e comportamento ingestivo de novilhas suplementadas a pasto. *Semina: Ciências Agrárias,* Londrina, v. 34, n. 1, p. 367-376, 2013c.

SANTOS, E. M.; ZANINE, A. M.; PARENTE, H. N.; FERREIRA, D. J.; ALMEIDA, J. C. C. Comportamento ingestivo de bezerras (Holandês x Zebu) sob pastejo no cerrado goiano. *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia, v. 7, n. 2, p. 143-151, 2006.

SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, D. J.; Van SOEST, P. J.; FOX, D. G.; RUSSEL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: carbohydrate and protein availability. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 70, n. 12, p. 3562-3577, 1992.

TEIXEIRA, F. A.; BONOMO, P.; PIRES, A. J. V.; SILVA, F. F.; MARQUES, J. A.; SANTANA JUNIOR, H. A. Padrões de deslocamento e permanência de bovinos em pastos de *Brachiaria decumbens* diferidos sob quatro estratégias de adubação. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 40, n. 7, p. 1489-1496, 2011.

TEIXEIRA, F. A.; MARQUES, J. A.; SILVA, F. F.; PIRES, A. J. V. Comportamento ingestivo e padrão de deslocamento de bovinos em pastagens tropicais. *Archivos de Zootenia*, Cordoba, v. 59, n. revisiones, p. 57-70, 2010.

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

Van SOEST, P. J., ROBERTSON, J. B., LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.

WEISS, W. P. Energy prediction equations for ruminant feeds. IN: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 61., 1999, Ithaca. *Proceedings…* Ithaca: Cornell University, 1999. p. 176-185.

WILM, H. G.; COSTELLO, D. F.; KLIPPLE, G. E. Estimating forage yield by the double sampling method. *Journal of American Society of Agronomy*, Madison, v. 36, p. 194-203, 1994.

ZANINE, A. M.; VIEIRA, B. R.; FERREIRA, D. J.; VIEIRA, A. J. M.; LANA, R. P.; CECON, P. R. Comportamento ingestivo de vacas Girolandas em pastejo de *Brachiaria brizantha* e Coast-cross. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal,* Salvador, v. 10, n. 1, p. 85-95, 2009.

V - CAPÍTULO III

GLICERINA BRUTA NO SUPLEMENTO DE VACAS PRIMÍPARAS LACTANTES MANTIDAS EM PASTAGEM TROPICAL IRRIGADA: COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS NA GORDURA DO LEITE

RESUMO: Objetivou-se com este estudo avaliar a composição de ácidos graxos da gordura do leite de vacas lactantes primíparas, mantidas em pastagem tropical irrigada, utilizando-se diferentes níveis de glicerina bruta no suplemento. O experimento foi conduzido na fazenda Rancho Santana, sendo utilizadas 10 vacas lactantes, distribuídas em cinco tratamentos, utilizando o delineamento de quadrado latino cinco por cinco (5x5), sendo dois quadrados latinos simultâneos. Os tratamentos foram constituídos de níveis de inclusão de glicerina bruta (GB) no suplemento (0, 94, 191, 289, 389 g/kg, na matéria seca). Os ésteres de ácidos graxos foram analisados por um cromatógrafo a gás Thermo Finnigan, modelo Trace-GC-Ultra. Os resultados foram analisados estatisticamente por meio de análises de variância e regressão a 0,05 de probabilidade. Os ácidos graxos saturados da gordura do leite, caproico (6:0), caprílico (8:0), cáprico (10:0), láurico (12:0), pentadecanoíco (15:0) e esteárico (18:0), apresentaram efeitos com a inclusão da glicerina bruta no suplemento ($P<0,05$). Os ácidos graxos poli-insaturados não diferiram com a elevação no nível de GB no suplemento ($P<0,05$). Por meio da razão dos ácidos pró e antiaterogênicos, foram calculados os índices de aterogenicidade (IA) e trombogenicidade, observando-se diferença somente para o IA ($P<0,05$). Dentre os ácidos graxos saturados e monoinsaturados, poucos foram os que modificaram com a inclusão de glicerina bruta no suplemento de vacas lactantes em pastagem tropical irrigada. Com exceção ao índice de aterogenicidade, a adição da glicerina não promoveu efeitos sobre variáveis que expressam a qualidade do leite como CLA, relação do ômega 6 e 3, índice de trombogenicidade e a razão dos ácidos graxos hipo e hipercolesterolêmicos, sendo assim recomendado a utilização deste coproduto até 389 g de GB (171 g de glicerol) por kg de suplemento.

PALAVRAS-CHAVE: ácidos graxos, biodiesel, biohidrogenação, glicerol, lipídios, síntese de *novo*

CRUDE GLYCERIN IN SUPPLEMENT TO PRIMIPAROUS LACTATING COWS GRAZING ON TROPICAL IRRIGATED PASTURE: FATTY ACID COMPOSITION OF IN MILK FAT

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate the fatty acid composition of fat in milk of lactating primiparous cows maintained in tropical irrigated pasture using different levels of crude glycerin in the supplement. The experiment was conducted at the farm Rancho Santana, being used 10 lactating cows were distributed into five treatments, using the latin square design five by five (5x5), two latin square. The treatments consisted of inclusion levels of crude glycerin (CG) in the supplement (0, 94, 191, 289, 389 g/kg of dry matter). Esters of fatty acids were analyzed by a gas chromatograph Thermo Finnigan, model Trace GC-Ultra. The results were analyzed statistically by analysis of variance and regression at 0.05 probability. Saturated fatty acids of milk fat, caproic (6:0), caprylic (8:0), capric (10:0), lauric (12:0), pentadecanoic (15:0) and stearic (18:0) showed effects with the inclusion of crude glycerin in the supplement ($P<0.05$). Polyunsaturated fatty acids did not differ with the rise in the level of CG in the supplement ($P<0.05$). As the ratio of acids pro and antiatherogenic indexes were calculated atherogenicity (IA) and thrombogenicity, observing only difference for the IA ($P<0.05$). Among the saturated fatty acids, monounsaturated, few have changed with the inclusion of crude glycerin supplementation in lactating cows grazing tropical irrigated. Except for the atherogenicity index, the addition of glycerin did not cause effects on variables expressing the quality of milk as CLA ratio of omega-6 and 3 and the thrombogenicity index ratio of hypo and hypercholesterolemia fatty acids, therefore recommend the use of coproduct GB to 389 g (171 g of glycerol) per kg of the supplement.

KEYWORDS: fatty acids, biodiesel, biohydrogenation, glycerol, lipids, *novo* of synthesis

INTRODUÇÃO

A glicerina bruta é uma fonte de glicerol ou propano-1,2,3-triol, que é um composto orgânico pertencente à função álcool, sendo líquido à temperatura ambiente (25°C), higroscópico, inodoro, viscoso e com sabor adocicado. Com a introdução de óleo vegetal na cadeia de produção do biocombustível no Brasil, é esperado o aumento da oferta de glicerol no mercado, sendo que não existe um destino proporcional à oferta, ocasionando um entrave ambiental.

Estudos têm sido realizados avaliando fatores dietéticos que podem aumentar a concentração de CLA na gordura do leite, envolvendo a adição de lipídios na dieta, a alteração da relação volumoso:concentrado, a utilização de ionóforos e tampões e a utilização de pastagem, entre outros. Entretanto, a utilização de um coproduto, como a glicerina bruta, que modifica o perfil de fermentação da dieta, pode promover modificação na composição do leite.

É crescente o número de informações sobre a influência da gordura do leite de vacas sobre a saúde humana (MOATE et al., 2008). Embora o leite apresente alta concentração de ácidos graxos saturados, como os oriundos da síntese de *novo*, a literatura tem indicado que, no perfil da gordura do leite, há vários compostos benéficos à saúde humana (EIFERT et al. 2006b; COSTA et al., 2009; SANTOS et al., 2011).

Já é sabido que os isômeros do CLA (ácido linoleico conjugado) possuem efeitos anticarcinogênicos, antidiabéticos, modulação do sistema imune, partição da energia e de redução no desenvolvimento de aterosclerose. O CLA no leite de ruminantes tem origem a partir da biohidrogenação parcial do ácido linoleico no rúmen e da síntese endógena a partir da ação da enzima Δ^9-desaturase sobre o *trans*-11 C18:1 na glândula mamária (LAWSON et al., 2001). De acordo com Fuke et al. (2012) aproximadamente 80% do CLA encontrado no leite é o C18:2 *cis*-9 *trans*-11.

Objetivou-se com este estudo avaliar a composição da gordura do leite de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com diferentes níveis de glicerina bruta no suplemento.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na fazenda Rancho Santana, situada em Jequié/BA, localizada a 13° 52' 14'' de latitude Sul, 40° 09' 47'' de longitude Oeste, com altitude média de 260 m. O trabalho de campo foi realizado no período de 21 de dezembro de 2010 a 16 de março de 2011, implantado em uma área de 7600 m^2, dividida em 14 piquetes de aproximadamente 543 m^2 cada, formada com *Brachiaria brizantha* cultivar MG-5, sendo irrigada com aspersão fixa e adubada durante o período experimental com 240 kg N/ha, na forma de ureia, distribuídos durante o período experimental. Os piquetes foram utilizados de forma intermitente, com ocupação de um dia e 13 dias de descanso.

Foram utilizadas 10 vacas lactantes ¾ Holandês x ¼ Gir Leiteiro, primíparas, com 109±24 dias de lactação, idade inicial de 30±6 meses e peso corporal inicial de 426,2 ± 68,29 kg, sendo distribuídas em cinco tratamentos, em delineamento experimental de quadrado latino cinco por cinco (5x5), utilizando-se dois quadrados simultâneos.

Os tratamentos foram constituídos de diferentes níveis de glicerina bruta no suplemento: G0 – Dieta sem inclusão de glicerina no suplemento (controle); G94 – 94 g de glicerina/kg de suplemento; G191 – 191 g de glicerina/kg de suplemento; G289 – 289 g de glicerina/kg de suplemento; G389 – 389 g de glicerina/kg de suplemento (Tabela 22). A quantidade de suplemento fornecido diariamente em todos os tratamentos foi 4,65 kg de MS. Estimou-se uma relação volumoso:concentrado de 75:25, sendo que a inclusão da glicerina representou uma tendência 0, 45, 90, 135 e 180 g de glicerina bruta por kg da dieta, respectivamente.

A ordenha matinal foi realizada às 5h00 horas e, a segunda ordenha, às 16h00 horas. A ordenha foi realizada de forma mecânica (tipo balde ao pé, modelo fila indiana com fosso). O suplemento concentrado foi fornecido logo após as ordenhas, de forma individual em cocho de polipropileno, com disponibilidade de 100 cm lineares por animal.

Os animais foram submetidos a um período de adaptação de 10 dias ao coproduto, antes do início do período experimental, seguindo recomendação de Donkin et al. (2009), via fornecimento da dieta intermediária (G191). O experimento teve

duração de 75 dias, divididos em cinco períodos de 15 dias, sendo 10 dias para adaptação dos animais às dietas experimentais e cinco dias para coleta de dados.

Tabela 22. Proporções dos ingredientes e composição bromatológicas do suplemento

Item	Nível de glicerina bruta no suplemento (g/kg)				
	G0	G94	G191	G289	G389
Milho grão moído (g/kg MN)	772	653	531	407	281
Farelo de soja (g/kg MN)	201	224	249	274	300
Glicerina bruta (g/kg MN)	---	94	191	289	389
Calcário calcítico (g/kg MN)	9	9	9	9	8
Fosfato bicálcico (g/kg MN)	---	---	---	---	1
Sal mineral[1] (g/kg MN)	20	20	20	20	20
MS (g/kg)	886	890	887	887	886
PB (g/kg MS)	166	163	164	164	165
NDT (g/kg MS)	704	722	706	695	717
CNF (g/kg MS)	602	606	603	591	589
FDNcp (g/kg MS)	98	95	92	87	88
EE (g/kg MS)	40	71	103	135	168

[1]Composição: cálcio 200 g; fósforo 100 g; sódio 68 g; magnésio 15 g; enxofre 12 g; cobalto 200 mg; cobre 1650 mg; iodo 195 mg; manganês 1960 mg; níquel 40 mg; selênio 32 mg; zinco 6285 mg; ferro 560 mg; flúor (máximo) 1000 mg.

MS - matéria seca; PB - proteína bruta; NDT – nutrientes digestíveis totais; CNF - carboidratos não fibrosos; FDNcp - fibra em detergente neutro corrigido para cinza e proteína; EE – extrato etéreo.

As amostras de leite para a determinação da sua composição foram coletadas individualmente em duas ordenhas consecutivas, no 13° e 14° dia de cada período. Foram retiradas alíquotas compostas de 20 mL/litro produzido (EIFERT et al., 2006a) da ordenhas da manhã e da tarde, sendo que foi considerada a proporcionalidade de produção de cada animal para formação da amostra composta.

Para a extração dos lipídios totais do leite, 50,0 mL de cada amostra descongelada foram centrifugados à 12.000 rpm, por 30 min, a 4ºC, em Micro Centrífuga de Alta Rotação Himac CF-16RX II. A camada sólida formada na parte

superior foi coletada e armazenada em frascos *eppendorfs* para posterior análise (REVENEAU, 2008).

Os lipídios extraídos do leite foram submetidos à preparação de ésteres metílicos de ácidos graxos, conforme procedimento descrito por Bannon et al. (1982) com modificações descritas por Simionato et al. (2010).

Foram adicionados 5,0 mL de solução de metóxido de sódio 0,25 $mol.L^{-1}$ em metanol-dietil éter (1:1), em um tubo de tampa rosqueável com aproximadamente 150 mg de lipídios, agitando por 3 minutos. À mistura, foram adicionados 2,0 mL de iso-octano e 10,0 mL de solução saturada de cloreto de sódio. O tubo foi novamente agitado e deixado em repouso para separação das fases, o sobrenadante foi transferido para frascos eppendorf devidamente identificados, para posterior análise cromatográfica.

Os ésteres de ácidos graxos foram analisados por um cromatógrafo a gás Thermo Finnigan, modelo Trace-GC-Ultra, equipado com Detector de Ionização de Chama (DIC) e coluna capilar de sílica fundida BPX-70 (120m, 0,25mm d.i). As vazões dos gases (White Martins) foram de 6,5 $mL.min^{-1}$ para o gás de arraste (H_2); 30 $mL.min^{-1}$ para o gás auxiliar (N_2); 30 $mL.min^{-1}$ para o H_2 e 250 $mL.min^{-1}$ para o ar sintético da chama. A razão da divisão da amostra foi de 90:10.

Os parâmetros de funcionamento foram estabelecidos após verificação da condição de melhor resolução. As temperaturas do injetor e detector foram 250°C e 280°C, respectivamente. A temperatura da coluna foi programada a 140°C por 10 minutos, seguido por uma primeira rampa de 15°C/min até atingir 200°C, permanecendo por 1 minuto. A segunda rampa foi de 10°C/min até atingir 230°C, permanecendo 1 minuto nesta temperatura. A terceira rampa de 0,4°C/min até atingir 233°C por 3 minutos. A última rampa foi de 0,5°C/min até atingir 238°C por 2 minutos. O tempo total de análise foi de 41,50 minutos.

As injeções foram realizadas em duplicata e os volumes foram de 1,2 μL. As áreas dos picos dos ésteres metílicos de ácidos graxos foram determinadas através do software ChromQuest 4.1.

A identificação dos ésteres metílicos de ácidos graxos foi realizada após verificação do Comprimento Equivalente de Cadeia (ECL - *Equivalent Length of Chain*) dos picos (VISENTAINER & FRANCO, 2006) e comparação dos tempos de

retenção de padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos contendo os isômeros *cis*-9, *trans*-11 e *trans*-10, *cis*-12 do ácido linoleico (189-19, O-5632 e O-5626, Sigma, EUA).

Para avaliar a resposta do detector de ionização de chama, foi utilizada uma solução constituída de uma mistura de padrões (Sigma) de ésteres metílicos de ácidos graxos com concentração conhecida. O fator de resposta foi calculado em relação ao tricosanoato de metila (23:0), através da equação: $F_R = (A_{23:0} * C_x) / (A_x * C_{23:0})$; em que: $A_{23:0}$ = área do tricosanoato de metila; C_x = concentração de ésteres metílicos de ácidos graxos; A_x = área do éster metílico de ácido graxos; $C_{23:0}$ = concentração tricosanoato de metila, conforme método proposto por Ackman (1972). Os fatores foram obtidos a partir da média de quatro repetições.

Foi realizada a quantificação dos ácidos graxos, em mg/g de lipídios totais, utilizando o padrão interno tricosanoato de metila (23:0) (Sigma, EUA). Após a pesagem dos lipídios (~ 150 mg) para transesterificação, foram adicionados a todas as amostras, com auxílio de uma micropipeta, 1000 µL da solução de padrão interno com concentração conhecida (1,00 g/mL). Para a quantificação, foram utilizados os fatores de resposta experimental, após verificação da concordância destes valores com os teóricos (COSTA et al., 2011).

As concentrações dos ácidos graxos presentes na amostra foram obtidas conforme Joseph & Ackman (1992), por meio da equação: $C_x = (A_x * M_P * F_R) / (A_p * M_a * F_c)$; em que: A_X = área dos ésteres metílicos dos ácidos graxos; A_P = área do padrão interno; M_P = massa do padrão interno adicionado à amostra (mg); M_a = massa da amostra (g); F_R = fator de resposta; F_C = fator de conversão do éster metílico para ácidos graxos.

A qualidade nutricional da fração lipídica do leite foi avaliada através do índice de aterogenicidade (IA), índice de trombogenicidade (IT) e razão entre ácidos graxos hipo e hipercolesterolêmicos (H:H). Os cálculos foram realizados segundo Ulbricht & Southgate (1991) e Santos-Silva (2002), através das seguintes equações: IA = (12:0 + (4 * 14:0) + 16:0) / (Σ MUFA + Σ n-6 + Σ n-3); IT = (14:0 + 16:0 + 18:0) / ((0,5 * Σ MUFA) + (0,5 * Σ n-6) + (3 * Σ n-3) + (Σ n-3/ Σ n-6)); H:H = (18:1n-9 + 18:2n-6 + 18:3n-3) / (14:0 + 16:0), em que: ΣMUFA = somatório de ácidos graxos monoinsaturados; Σn-6 = somatório dos ácidos graxos da família ômega-6; Σn-3 =

somatório dos ácidos graxos da família ômega-3; Σn-3:Σn-6 = relação dos ácidos graxos da família ômega 6 e 3.

O índice da Δ^9-dessaturase foi definido como o produto da Δ^9-dessaturase em razão da soma do produto da Δ^9-dessaturase com seu substrato (KELSEY et al., 2003). O índice de dessaturase foi calculado para quatro pares de ácidos graxos que representam produtos e substratos para a Δ^9-dessaturase, estes pares de ácidos graxos foram 14:1n-9c/14:0; 16:1n-9c/16:0; 18:1n-9c/18:0.

Em todas as variáveis, um animal representou uma unidade experimental. Os dados foram analisados estatisticamente por meio de análises de variância e regressão a 0,05 de probabilidade, com o auxílio do programa SAEG (versão 9.1). O modelo estatístico utilizado foi $Y_{ij(k)} = m + L_i + C_j + t_k + e_{ij(k)}$, sendo: $Y_{ij(k)}$ - o valor observado para a variável em estudo referente ao k-ésimo tratamento, na i-ésima linha e na j-ésima coluna; m – média de todas as unidades experimentais para a variável em estudo; Li - efeito da linha i; C_j – efeito da coluna j + t_k - efeito do tratamento k; e_{ijk} – erro experimental.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ácidos graxos encontrados em maiores quantidades no leite foram os ácidos mirístico (14:0), palmítico (16:0) e oleico (18:1n-9c), que apresentaram teores de 189, 415 e 839 mg/g de gordura do leite, respectivamente. Lacerda et al. (2013), trabalhando com a gordura do leite de vacas lactantes com níveis de inclusão de orégano na dieta, citaram que houve a presença em maior quantidade de ácidos graxos supracitados, erguendo a hipótese de que esses resultados podem ser uma peculiaridade do produto em estudo (leite de vaca).

Os ácidos graxos saturados (AGS) da gordura do leite, caproico (6:0), caprílico (8:0), cáprico (10:0), láurico (12:0), pentadecanoico (15:0) e esteárico (18:0) apresentaram efeitos com a inclusão da glicerina bruta no suplemento ($P<0,05$), sobretudo, os demais AGS não diferiram entre os tratamentos (Tabela 23).

No presente estudo, encontrou-se uma variação do peso corporal diário (VPCd), sendo explicado pela equação VPCd = 785,33 - 77,185 x GB (R^2 = 0,86; P = 0,0396) (SANTANA JÚNIOR et al., 2013), sendo linear decrescente, demonstrando que o aumento do nível de GB na dieta promoveu mobilização de tecido corporal. E de acordo com Palmquist et al. (1993), ácidos graxos oriundos da mobilização corpórea inibem a síntese *de novo* na glândula mamária, sendo que este processo é dinâmico e, à medida que aumenta essa mobilização, há uma concomitante diminuição de ácidos graxos de 6 a 12 carbonos, o que pode explicar a porção de diminuição no efeito quadrático da maioria dos ácidos graxos.

A semelhança no teor de ácido mirístico com a inclusão do coproduto pode ser considerado um fator negativo à ingestão do produto final, pois a ingestão de ácido mirístico está relacionada ao aumento dos níveis de colesterol total e das lipoproteínas de baixa densidade (LDL – Low Density Lipoproteins) (HU et al., 2001; FRENCH et al., 2003). Em estudos com vacas leiteiras, Bell et al. (2006), testando óleo de cártamo; Paschoal et al. (2007), trabalhando com soja extrusada adicionada de selênio; e Lacerda et al. (2013), com níveis de orégano na dieta, encontraram efeito linear decrescente para

o ácido mirístico com a elevação dos níveis de inclusão da GB na dieta, discordando com o presente estudo.

Tabela 23. Quantidade de ácidos graxos saturados, em mg/g de lipídios, no leite de vacas lactantes primíparas, mantidas em pastagem tropical, com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento

Item	Nível de glicerina bruta no suplemento					CV[1]	Valor P[2]	
	G0	G94	G191	G289	G389		L	Q
4:0	37,32	37,67	28,52	44,20	42,30	39,8	0,3560	0,3957
6:0[3]	35,47	36,45	32,18	44,23	43,59	25,4	0,0379	0,0715
8:0[4]	21,01	21,73	19,51	21,40	28,56	29,5	0,0727	0,0337
10:0[5]	45,83	44,77	41,55	52,61	63,31	25,6	0,0064	0,0019
12:0[6]	51,83	47,44	43,40	57,83	65,93	26,1	0,0221	0,0040
13:0	5,64	2,10	4,69	2,43	1,87	103,2	0,0852	0,2220
14:0	159,01	176,73	239,89	191,97	179,46	44,2	0,5148	0,2563
15:0[7]	12,63	13,58	13,58	23,45	20,40	32,48	0,0001	0,0008
16:0	437,27	421,11	413,71	402,19	402,12	18,9	0,3221	0,5958
17:0	7,13	14,73	7,13	9,11	8,36	112,0	0,7606	0,8216
18:0[8]	168,55	170,76	128,04	143,40	134,13	26,7	0,0368	0,0964
22:0	1,18	0,48	1,36	0,58	0,38	100,5	0,1373	0,2896

[1] Coeficiente de variação (%). [2] L e Q: efeitos de ordem linear e quadrática relativos à inclusão de glicerina bruta no suplemento, respectivamente. [3]$\hat{Y} = 33,609 + 0,0248x$ ($R^2 = 0,52$); [4]$\hat{Y} = 21,919 - 0,0347x + 0,0001x^2$ ($R^2 = 0,86$); [5]$\hat{Y} = 46,4 - 0,0653x + 0,0003x^2$ ($R^2 = 0,95$); [6]$\hat{Y} = 51,687 - 0,0858x + 0,0003x^2$ ($R^2 = 0,90$); [7]$\hat{Y} = 11,876 - 0,0224x + 0,00001x^2$ ($R^2 = 0,68$); [8]$\hat{Y} = 167,97 + 0,0986x$ ($R^2 = 0,60$).

O ácido graxo monoinsaturado (MUFA), 10-heptadecenoico (17:1), apresentou efeito quadrático com a inclusão do coproduto no suplemento ($P<0,05$) (Tabela 24). O ácido oleico (18:1n-9c), conhecido pela sua propriedade hipocolesterolêmica, apesar de estar presente em maior quantidade na gordura do leite, quando comparado aos demais MUFA, não se verificou diferença estatística com a adição da GB no suplemento ($P>0,05$), apresentando média entre os tratamentos de 839,17 $mg.g^{-1}$. O ácido oleico é um produto da atividade da enzima Δ^9-dessaturase, sendo esta atividade responsável

pela dessaturação dos AGS com 14 a 18 átomos de carbono, convertendo-os em seus correspondentes MUFA, com uma ligação dupla no carbono 9 (BEAULIEU et al., 2002).

Tabela 24. Quantidade de ácidos graxos monoinsaturados, em mg/g de lipídios, no leite de vacas lactantes primíparas, mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento

Item	Nível de glicerina bruta no suplemento					CV[1]	Valor P[2]	
	G0	G94	G191	G289	G389		L	Q
14:1	3,81	4,09	2,75	4,33	5,67	44,6	0,1145	0,1033
15:1	1,94	1,76	1,14	1,27	1,78	26,4	0,4579	0,2964
16:1	10,06	9,13	7,66	9,64	10,43	24,8	0,4222	0,6961
17:1[3]	1,87	1,71	1,41	1,97	2,46	24,5	0,0175	0,0176
18:1n-9t	11,49	11,67	8,07	11,09	13,49	35,38	0,1031	0,2683
18:1n-9c	166,49	145,81	99,87	126,97	153,07	4,4	0,2957	0,1690

[1] Coeficiente de variação (%). [2] L e Q: efeitos de ordem linear e quadrática relativos à inclusão de glicerina bruta no suplemento, respectivamente. [3] $\hat{Y} = 10,705 - 0,0083x + 0,00004x^2$ ($R^2 = 0,91$).

Os ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) não diferiram com a elevação no nível de GB no suplemento (P<0,05) (Tabela 25). A ingestão de MUFA traz benefícios à saúde humana, sendo que, quando substitui os AGS por MUFA, os níveis de LDL diminuem, enquanto HDL (High Density Lipoprotein) permanecem inalterados (GRUNDY & DENKE, 1990; KINSELLA et al., 1990; MATHERSON et al., 1996).

Para o somatório dos ácidos graxos saturados, monoinsaturados, poli-insaturados, ômega-6 e ômega-3 presente na gordura do leite, não se observou efeito com o aumento do nível de GB no suplemento (P<0,05) (Tabela 26).

Ferlay et al. (2010), avaliando dieta com silagem de milho adicionando linhaça extrusada, vitamina E ou extratos de plantas ricas em polifenois (alecrim, casca e semente da uva, citros e flor de calêndula), encontraram elevação dos MUFA, principalmente no tratamento com fonte rica em gordura (linhaça), sendo evidenciado

nesta pesquisa que os extratos de plantas apresentaram efeito positivo sobre os somatórios de MUFA, provocando, assim, diminuição do somatório de PUFA. Aoki et al. (2010), avaliando a suplementação com lipídios contendo alto teor de antioxidante na dieta de vacas leiteiras, notaram que os ácidos graxos da família ômega 6 não apresentaram efeito da suplementação, ao contrário dos ômega 3, que apresentaram efeito com o suplemento. Petit & Gagnon (2011), alimentando vacas leiteiras com casca de linho, observaram o aumento linear no teor de PUFA.

Tabela 25. Quantidade de ácidos graxos poli-insaturados, em mg/g de lipídios, no leite de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento

Item	Nível de glicerina bruta no suplemento					CV[1]	Valor P[2]	
	G0	G94	G191	G289	G389		L	Q
18:2n-6t	1,14	0,80	1,16	1,23	1,30	228,8	0,2519	0,5126
18:2n-6c	5,71	5,16	4,61	4,26	5,25	87,6	0,8042	0,4121
18:3n-3c	0,33	1,46	0,01	0,09	0,00	292,1	0,0740	0,2009
18:3n-3	2,95	1,41	1,47	1,16	1,51	275,6	0,1019	0,1517
18:2c-9t11	3,96	4,35	6,89	5,89	6,70	124,4	0,9888	0,4356

[1] Coeficiente de variação (%). [2] L e Q: efeitos de ordem linear e quadrática relativos à inclusão de glicerina bruta no suplemento, respectivamente.

Após as primeiras observações sobre os efeitos benéficos à saúde dos ácidos graxos n-3, os estudos acerca destes têm sido estendidos, relacionando sua presença em alimentos a possíveis benefícios sobre doenças como cânceres, doença inflamatória intestinal e artrite reumatoide (SIMOPOULOS, 2002).

A razão dos PUFA e AGS não apresentou efeito entre os tratamentos (P>0,05) (Tabela 27), apresentando média de 0,022. Segundo o Departamento de Saúde do Reino Unido, o valor ideal desta razão para um alimento ser considerado saudável deve ser de 0,40 (WOOD et al., 2003), sendo que valores menores indicam dietas pouco saudáveis. Entretanto, nos produtos lácteos dos ruminantes, são comumente encontrados valores

baixos desta razão, em virtude do processo de biohidrogenação dos PUFA da dieta no rúmen pela ação de microrganismos (FRENCH et al., 2000).

O somatório dos AGS representaram aproximadamente 80% da quantidade de ácidos graxos presentes na gordura das amostras de leite, sendo que o maior valor encontrado neste estudo foi 658 mg por grama de gordura no G389. Os AGS possuem a característica de elevar os níveis de LDL e reduzir os níveis de HDL, o que contribui para a elevação dos riscos de doença coronariana, sendo que esses ácidos não apresentam o mesmo efeito hipercolesterolêmico. Os ácidos graxos desta classe que apresentam maior poder hipercolesterolêmico ou aterogênico são, em ordem decrescente de atividade, os ácidos mirístico (14:0), palmítico (16:0) e láurico (12:0), já o ácido esteárico (18:0), apesar de saturado, parece não possuir efeito sobre as lipoproteínas do sangue (DRISKELL, 2006).

Tabela 26. Valores médios relativos aos somatórios de ácidos graxos, mg/g, no leite de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento

Item	Nível de glicerina bruta no suplemento					CV[1]	Valor P[2]	
	G0	G94	G191	G289	G389		L	Q
Σ AGS[3]	551,96	513,77	348,45	421,55	658,00	5,96	0,2763	0,3352
Σ MUFA[4]	193,09	174,17	120,90	155,28	181,12	17,94	0,2373	0,3821
ΣPUFA[5]	11,22	11,16	8,48	9,72	12,96	55,32	0,6460	0,3783
Σ n-6[6]	6,90	5,88	4,14	4,28	5,71	23,6	0,1304	0,3087
Σ n-3[7]	2,95	1,41	1,47	1,16	1,51	79,4	0,3598	0,6394

[1] Coeficiente de variação (%). [2] L e Q: efeitos de ordem linear e quadrática relativos à inclusão de glicerina bruta no suplemento, respectivamente. [3]Somatório de Ácidos Graxos Saturados (4:0, 6:0, 8:0, 10:0, 12:0, 13:0, 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, 20:0 e 22:0); [4]Somatório de Ácidos Graxos Monoinsaturados (14:1, 15:1, 16:1, 17:1, 18:1n-7t e 18:1n-9c); [5]Somatório de Ácidos Graxos Poliinsaturados (18:2n-6, CLAc9t11, CLAt10c12, 18:3n-3, 20:3n-3 e 20:3n-6); [6]Somatório do Ômega-6 (18:2n-6c e 18:2n-6t); [7]Somatório do Ômega-3 (18:3n-3).

Apesar dos efeitos benéficos relacionados aos PUFA, cada vez mais tem se preocupado com a manutenção de uma dieta equilibrada entre as famílias de ácidos graxos n-6 e n-3, pois um aumento de n-6 poderia reduzir o metabolismo de n-3, levando possivelmente a um déficit de seus metabólitos, sendo necessária a manutenção de uma dieta equilibrada entre essas duas famílias de ácidos graxos (SHILS et al., 2003). Diversos estudos têm demonstrado os efeitos benéficos dos ácidos graxos da família n-3, no metabolismo lipídico, reduzindo os níveis plasmáticos dos triglicerídeos, colesterol total e LDL e a incidência de aterosclerose (NESTEL, 2000; MORAES & COLLA, 2006).

Tabela 27. Valores médios relativos aos índices de qualidade nutricional do leite de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento

Item	Nível de glicerina bruta no suplemento					CV[1]	Valor P[2]	
	G0	G94	G191	G289	G389		L	Q
PUFA:AGS[3]	0,019	0,022	0,023	0,023	0,020	53,8	0,7357	0,4118
n-6:n-3[4]	4,94	4,56	3,77	4,56	4,29	50,6	0,9673	0,9922
IA[5, 8]	3,27	3,37	5,57	3,23	4,27	30,8	0,0198	0,0604
IT[6]	3,38	3,24	3,26	2,84	3,74	38,2	0,1600	0,3776
H:H[7]	0,54	0,50	0,43	0,58	0,42	85,4	0,1741	0,3529

[1] Coeficiente de variação (%). [2] L e Q: efeitos de ordem linear e quadrática relativos à inclusão de glicerina bruta no suplemento, respectivamente. [3]Razão entre os ácidos graxos poliinsaturados e saturados; [4]Razão entre os ácidos graxos da família ômega-6 e ômega-3; [5]Índice de aterogenicidade; [6]Índice de trombogenicidade; [7]Razão entre ácidos graxos hipo e hipercolesterolêmicos. [8]$\hat{Y} = 1,482 + 0,0016x$ (R^2 = 0,82).

Os ácidos linoleico (18:2n-6) e α-linolênico (18:3n-3) são considerados ácidos graxos essenciais por não serem sintetizados pelo organismo, os quais devem ser obtidos por meio da alimentação, enquanto os demais ácidos graxos das famílias n-6 e n-3, além de serem obtidos através da dieta, podem ser produzidos pelo organismo a

partir da síntese destes ácidos graxos pela ação de enzimas alongase e dessaturase (CALDER, 2003).

A razão de n-6:n-3 na gordura do leite não foi alterada com a inclusão da GB (P>0,05), abordando uma razão média de 4,42. Como a dieta humana nos últimos anos apresentou elevada razão n-6:n-3, esta relação é considerada ótima, pois o recomendado pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (FAO, 2007) é entre 5 e 10, com isso o consumo de leite bovino, oriundo de dieta similar, promoverá uma diminuição da relação, favorecendo a nutrição humana. Outros estudos, Ferlay et al. (2010) e Petit & Gagnon (2011) encontraram razões, também abaixo do recomendado em estudos com vacas lactantes. A relação n-6:n-3 é um importante indicador da qualidade nutricional do leite devido a sua influência sobre os fatores de risco relacionados ao aparecimento de câncer, doenças cardíacas e à formação de coágulos que podem levar a ataques cardíacos (LIMA et al., 2011). Simopoulos (2008) e Lacerda et al. (2013) citaram que a excessiva quantidade de ácidos graxos n-6 e a deficiência do n-3 na dieta promovem uma razão desproporcional de n-6:n-3, e pode levar ao desenvolvimento das doenças crônicas.

Por meio da razão dos ácidos pró e antiaterogênicos, foram calculados os índices de aterogenicidade (IA) e trombogenicidade (IT), observando-se diferença somente para o IA (P<0,05). Já o IT apresentou o valor médio entre os tratamentos de 1,09. Segundo Lacerda et al. (2013), estes índices indicam o potencial de estímulo à agregação plaquetária, ou seja, quanto menores os valores de IA e IT, maior é quantidade de ácidos graxos antiaterogênicos presentes na gordura e, consequentemente, maior é o potencial de prevenção ao aparecimento de doenças coronarianas (TURAN et al., 2007).

A razão entre os ácidos graxos hipo e hipercolesterolêmicos (H:H) não apresentou diferença estatística com a inclusão da GB no suplemento (P>0,05). A relação H:H é baseada nos efeitos funcionais dos ácidos graxos sobre o metabolismo do colesterol, contudo, permite uma melhor avaliação nutricional, além de considerar os efeitos benéficos dos MUFA nessa relação.

O ácido rumênico (18:2c9t11), isômero do ácido linoleico conjugado (CLA - Conjugated Linoleic Acid) foi o único CLA detectado nas amostras, sendo decorrência de ser considerado o principal isômero encontrado em gorduras de ruminantes (LOPES et al., 2009).

O CLA é formado no rúmen pela biohidrogenação incompleta do ácido linoleico da dieta, sendo que a maior parte, porém, é produzida endogenamente na glândula mamária, através da dessaturação do ácido graxo vacênico (18:1n-7t), por uma enzima presente na glândula mamária e no tecido adiposo, a Δ^9-dessaturase. Como o ácido vacênico também é produzido no rúmen pela biohidrogenação, pode-se dizer que este processo é o grande responsável pela formação de CLA em ruminantes, o que explica seus produtos serem as maiores fontes destes ácidos graxos (MEDEIROS, 2002).

O teor de CLA na gordura do leite geralmente encontra-se entre 0,3 e 1,0%, no entanto, vários fatores podem influenciar o seu conteúdo, como as estações do ano, alimentação e raça do animal, estágio de lactação e o processamento do alimento (PRANDINI et al., 2007). Os isômeros dos CLA têm sido amplamente pesquisados por suas propriedades anticarcinogênicas, associadas ao isômero t9,c11, e capacidade de reduzir a gordura corporal enquanto aumenta, concomitantemente, a massa muscular, associados ao isômero t10,c12 (CAMPBELL et al., 2003).

A atividade da enzima Δ^9-dessaturase pode ser avaliada indiretamente através de quatro principais índices, estes são obtidos por meio da razão entre os pares de ácidos graxos representados pelos produtos (14:1n-9c, 16:1n-9c, 18:1n-9c e CLA *cis*-9, *trans*-11) e substratos (14:0, 16:0, 18:0 e 18:1n7t) da enzima (FOX & MCSWEENEY, 1998).

Na ausência de medidas diretas, razões do produto e substrato da gordura do leite têm sido utilizados para estimar a atividade da enzima Δ^9-dessaturase na glândula mamária (GRIINARI et al., 2000), e ainda existem estudos que apontaram que estas razões de ácidos graxos do leite estão relacionadas positivamente com a atividade mamária da Δ^9-dessaturase (SINGH et al., 2004; BERNARD et al., 2005).

Os índices de atividade da Δ^9-dessaturase não apresentaram diferenças entre os níveis de GB no suplemento (P>0,05) (Tabela 28). A Δ^9-dessaturase é a enzima responsável pela retirada de moléculas de hidrogênio das cadeias carbonadas dos ácidos graxos saturados, transformando-os em insaturados, dessa forma, o aumento da atividade da enzima na glândula mamária para o ácido miristoleico (14:1) pode ser confirmado a partir da análise dos resultados obtidos para o ácido mirístico (14:0) e miristoleico (14:1), os quais apresentaram redução e aumento nos seus teores, respectivamente, ocorrendo a redução da saturação devido ao aumento da atividade da dessaturase e aumento da produção destes ácidos graxos insaturados.

A razão de ácido miristoleico e ácido mirístico (14:1n-9c e 14:0) pode ser a melhor representante da atividade da Δ^9-dessaturase na glândula mamária, o que está relacionado com o fato do ácido mirístico originar-se quase exclusivamente através da síntese do novo na glândula mamária, e, como consequência, todo ácido miristoleico presente na gordura do leite é sintetizado na glândula mamária através da Δ^9-dessaturase. Sendo que, em contraste, a absorção de ácidos graxos a partir do trato digestivo e mobilização de reservas corporais de gordura podem ser responsáveis por uma grande e variável proporção de ácidos palmitoleico, palmítico, oleico, esteárico e vacênico, bem como de CLA, tornando proporções realizadas a partir destes ácidos graxos indicativos menos reais sobre a atividade da Δ^9-dessaturase (PETERSON et al., 2002).

Tabela 28. Valores médios relativos aos índices de atividade da enzima Δ^9-dessaturase no leite de vacas lactantes primíparas mantidas em pastagem tropical com níveis de inclusão de glicerina bruta no suplemento

Item[3]	Nível de glicerina bruta no suplemento					CV[1]	Valor P[2]	
	G0	G94	G191	G289	G389		L	Q
14:1n-9c	0,047	0,043	0,030	0,051	0,047	43,2	0,4535	0,0463
16:1n-9c	0,041	0,040	0,043	0,080	0,038	81,1	0,3061	0,4657
18:1n-9c	0,663	0,642	0,687	0,705	0,643	35,9	0,4371	0,7289

[1] Coeficiente de variação (%). [2] L e Q: efeitos de ordem linear e quadrática relativos à inclusão de glicerina bruta no suplemento, respectivamente. [3]Índice de atividade da Δ^9-dessaturase - (produto da dessaturase) / (produto da dessaturase + substrato da dessaturase).

CONCLUSÕES

Dentre os ácidos graxos saturados e monoinsaturados, poucos foram os que modificaram com a inclusão de glicerina bruta no suplemento de vacas lactantes em pastagem tropical irrigada.

Com exceção ao índice de aterogenicidade, a adição da glicerina não promoveu efeitos sobre variáveis que expressam a qualidade do leite como CLA, relação do ômega 6 e 3, índice de trombogenicidade e a razão dos ácidos graxos hipo e hipercolesterolêmicos, sendo, assim, recomendada a utilização deste coproduto até 389 g de GB (171 g de glicerol) por kg de suplemento.

REFERÊNCIAS

ACKMAN, R.G. The analyses of fatty acids and related materials by gás-liquid chomatography. **Progress in the Chemistry of fats & Other lipids**, v.12, p.165-284, 1972.

AOKI, N.; FURUKAWA, S.; SATO, K.; KUROKAWA, Y.; KANDA, S.; TAKAHASHI, Y.; MITSUZUMI, H.; ITABASHI, H. Supplementation of the diet of dairy cows with trehalose results in milk with low lipid peroxide and high antioxidant content. **Journal Dairy Science**, v.93, n.9, p.4189–4195, 2010.

BANNON, C.D.; BREEN, G.J.; CRASKE, J.D.; HAI, N.T.; HARPER, N.L.; O´ROURKE, K.L. Analysis of fattu acid methyl esters with high accuracy and reliability. **Journal of Chromatography**, v. 247, p. 71-89, 1982.

BEAULIEU, A.D.; DRACKLEY, J.K.; MERCHEN, N.R. Concentrations of conjugated linoleic acid (cis-9, trans-11 octadienoic acid) are not increased in tissue lipids of cattle fed with high concentrate diet supplemented with soybean oil. **Journal of Animal Science**, v.80, n.3, p.847-861, 2002.

BELL, J.A.; GRIINARI, J.M.; KENNELLY, J.J. Effect of safflower oil, flaxseed oil, monensin, and vitamin e on concentration of conjugated linoleic acid in bovine milk fat. **Journal Dairy Science**, v.89, n.2, p.733–748, 2006.

BERNARD, L.; ROUEL, J.; LEROUX, C.; FERLAY, A.; FAULCONNIER, Y.; LEGRAND, P.; CHILLIARD, Y. Mammary lipid metabolism and milk fatty acid secretion in alpine goats fed vegetable lipids. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.1478–1489, 2005.

CALDER, P.C. Long-chain n-3 fatty acids and inflammation: potential application in surgical and trauma patients. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.36, n.4, p.433-446, 2003.

CAMPBELL, W.; DRAKE, M.A.; LARICK, D.K. The impact of fortification with Conjugated Linoleic Acids (CLA) on the quality of fluid milk. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.1, p.43-51, 2003.

COSTA, E. N.; LACERDA, E. C. Q.; SANTOS, S. M. S.; SANTOS, C. M. S.; FRANCO, M.; SILVA, R. R.; SIMIONATO, J. I. Action of successive heat treatments in bovine milk fatty acids. **Journal Brazilian Chemical Society**, p.1-6, 2011.

COSTA, R.G.; QUEIROGA, R.C.R.E.; PEREIRA, R.A.G. Influência do alimento na produção e qualidade do leite de cabra. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.307-321, 2009 (supl. especial).

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.

DRISKELL, J.A. **Sports nutrition: fats and proteins**. Boca Raton: CRC, 2006. 383p.

EIFERT, E.C.; LANA, R.P.; LANNA, D.P.D., LEOPOLDINO, W.M.; ARCURI, P.B.; LEÃO, M.I.; COTA, M.R.; VALADARES FILHO, S.C. Perfil de ácidos graxos do leite de vacas alimentadas com óleo de soja e monensina no início da lactação **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.1, p.219-228, 2006a.

EIFERT, E.C.; LANA, R.P.; LANNA, D.P.D.; TEIXEIRA, R.M.A.; ARCURI, P.B.; LEÃO, M.I.; OLIVEIRA, M.V.M.M, VALADARES FILHO, S.C. Perfil de ácidos graxos e conteúdo de ácido linoleico conjugado no leite de vacas alimentadas com a combinação de óleo de soja e fontes de carboidratos na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1829-1837, 2006b (supl.).

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nation. **Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação**, 2007. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/601/defaut.aspx>. Acesso em: 05/06/13.

FERLAY, A.; MARTIN, B.; LERCH, M.; GOBERT, M.; PRADEL, P.; CHILLIARD, Y. Effects of supplementation of maize silage diets with extruded linseed, vitamin E and plant extracts rich in polyphenols, and morning v. evening milking on milk fatty acid profiles in Holstein and Montbe´ liarde cows. **Animal**, v.4, n.4, p.627–640, 2010.

FOX, P.F.; McSWEENEY, P.L.H. **Dairy chemistry and biochemistry.** London: Blackie Academic & Professional, 1998. 478p.

FRENCH, P.; O'RIORDAN, E.G.; MONAHAN, F.J.; MOLONEY, A.P.; LAWLESS, F. Fatty acid composition of intra-muscular triacylglycerols of steers fed autumn grass and concentrates. **Livestock Production Science**, v.81, p.307-317, 2003.

FRENCH, P.; STANTON, C.; LAWLESS, F.; O'RIORDAN, E.G.; MONAHAN, F.J.; CAFFREY, P.J.; Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid, of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage, or concentrate-based diets. **Journal Animal Science**, v.78, p.2849-2855, 2000.

FUKE, G.; NÖRNBERG, J.L.; RODRIGUES, I.L.; SOUZA, A.P.B.; NOVACK, M.E.; BEZERRA, A.S. Teor de CLA em leites produzidos em diferentes regiões do Estado do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira Ciências Veterinárias**, v.19, n.2, p.109-113, 2012.

GRIINARI, J.M.; CORL, B.A.; LACY, S.H.; CHOUINARD, P.Y.; NURMELA, K.V. V.; BAUMAN, D.E. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Δ^9-desaturase. **Journal of Nutrition**, v.130, p.2285–2291, 2000.

GRUNDY, S. M.; DENKE, M. A. Dietary influences on serum lipids and lipoproteins. J**ournal Lipid Research**, v. 31, n. 11, p. 49-72, 1990.

HU, F.B.; MANSON, J.E.; WILLETT, W.C. Types of dietary fat and risk of coronary heart disease: a critical review. **Journal of the American College of Nutrition**, v.20, n.1, p.5-19, 2001.

JOSEPH, J.D.; ACKMAN, R.G. Capillary column gas-chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils and fish oil ethyl-esters - Collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.75, n.3, p.488-506, 1992.

KELSEY, J.A.; CORL, B.A.; COLLIER, R.J.; BAUMAN, D.E. The effect of breed, parity, and stage of lactation on Conjugated Linoleic Acid (CLA) in milk fat from dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.2588–2597, 2003.

KINSELLA, J.E.; LOKESH, B.; STONE, R.A. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular disease: possible mechanisms. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.52, p.1-28, 1990.

LACERDA, E.C.Q.; MACEDO, M.S.; DAMÁSIO, J.M.A.; SANTOS, S.M.S.; SANTOS, C.M.S.; SANTOS, M.F.; SIMIONATO, J.I. Efeito da inclusão de orégano na dieta de vacas leiteiras sobre os ácidos graxos do leite. **Higiene Alimentar**, v.27, p.565-568, 2013.

LAWSON, R.E.; MOSS, A.R.; GIVENS, D.I. The role of dairy products in supplying conjugated linoleic acids to man's diet: a review. **Nutrition Research Reviews** , v.14, p.153-172, 2001.

LIMA, L.S.; OLIVEIRA, R.L.; BAGALDO, A.R.; GARCEZ, A.F.; RIBEIRO, C.V.M.; LANNA, D.P.D. Composition and fatty acid profile of milk from cows on pasture subjected to licuri oil supplement. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.12, p.2858-2865, 2011.

LOPES, C.N.; SCARPA, A.B.; CAPPELLOZZA, B.I.; COOKE, R.F.; VASCONCELOS, J. L.M. Effects of rumen-protected polyunsaturated fatty acid supplementation on reproductive performance of *Bos indicus* beef cows. **Journal Animal Science***,* v.87, n.123, p.935-3943, 2009.

MATHERSON, B.; WALKER, K.Z.; TAYLOR, D.M.; PETERKIN, R.; LUGG, D.; DEA, K. Effects serum lipids of monounsaturated oil and margarine in the diet of an Antarctic expedition. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 63, n. 9, p. 33-41, 1996.

MEDEIROS, S.R. **Ácido linoleico conjugado: teores nos alimentos e seu uso no aumento da produção de leite com maior teor de proteína e perfil de ácidos graxos modificado**. 2002, 114f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2002.

MOATE, P.J.; CHALUPA, W.; BOSTON, R.C.; LEAN, I.J. Milk fatty acids II: prediction of the production of individual fatty acids in bovine milk. **Journal of Dairy Science**, v.91, p.1175–1188, 2008.

MORAES, F.P.; COLLA, L.M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica Farmacêutica**, v.3, n.2, p.109-122, 2006.

NESTEL, P.J. Fish oil and cardiovascular disease: lipids and arterial function. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.71, n.1, p.228-231, 2000.

PALMQUIST, D.L.; BEAULIEU, A.D.; BARBANO, D.M. Feed and animal factors influencing milk fat composition. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.1753-1771, 1993.

PASCHOAL, J.J.; ZANETTI, M.A.; DEL CLARO, G.R.; MELO, M.P.; PUGINE, S.P.; CUNHA, J.A. Perfil de ácidos graxos e estabilidade oxidativa do leite de vacas Holandesas alimentadas com soja extrusada e selênio orgânico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.12, p. 1793-1799, 2007.

PETERSON, D.G.; KELSEY, J.A.; BAUMAN, D.E. Analysis of Variation in *cis*-9, *trans*-11 Conjugated Linoleic Acid (CLA) in Milk Fat of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v.85, n.9, 2002.

PETIT, H.V.; GAGNON, N. Production performance and milk composition of dairy cows fed different concentrations of flax hulls. **Animal Feed Science and Technology**, v.169, p.46– 52, 2011.

PRANDINI, A.; BROGNA, N.; PIVA, G. Different level of conjugated linoleic acid (CLA) in dairy products from Italy. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.20, n.6, p.472-479, 2007.

REVENEAU, C. **Dietary source and availibility of fatty acids to manipulate ruminal protozoa, metabolism of fat, and milk fatty acid profile in lactating dairy cows**. 2008, 152 f. Tese (Doutor em Fisiologia), Ohio State University.

SANTANA JÚNIOR, H.A.; FIGUEIREDO, M.P.; CARDOSO, E.O.; MENDES, F.B.L.; ABREU FILHO, G.; PINHEIRO, A.A.; VIANA, P.T.; ROSEIRA, J.P.S. Crude glycerin in supplement to primiparous lactating cows grazing on tropical pasture: nutritional and productive characteristics. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.42, n.2, p.117-124, 2013.

SANTOS, S.F.; BOMFIM, M.A.D.; CÂNDIDO, M.J.D.; SILVA, M.M.C.; PEREIRA, L.P.S.; SOUZA NETO, M.A; GARRUTI, D.S; SEVERINO, L.S. Efeito da casca de mamona sobre a produção, composição e ácidos graxos do leite de cabra. **Archivos de Zootecnia**, v.60, n.229, p.113-122, 2011.

SANTOS-SILVA, J.; BESSA, R.J.B.; MENDES, I.A. The effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lamb. II Fatty acid composition of meat. **Livestock Science**, v.77, n.2, p.187-194, 2002.

SIMIONATO, J.I.; GARCIA, J.C.; SANTOS, G.T.; OLIVEIRA, C.C.; VISENTAINER, J.V.; SOUZA, N.E. Validation of the determination of fatty acids in milk by gas chromatography. **Journal Brazilian Chemical Society,** v.21, n.520, 2010.

SIMOPOULOS, A.P. Omega-3 fatty acids in inflammation an autoimmune diseases. **Journal of the American College of Nutrition**, v.21, n.6, p.495–505, 2002.

SIMOPOULOS, A.P. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. **Experimental Biology and Medicine***,* v.233, n 6, p.674-688, 2008.

SINGH, K.; HARTLEY, D.G.; MCFADDEN, T.B.; MACKENZIE, D.D.S. Dietary fat regulates mammary stearoyl CoA desaturase expression and activity in lactating mice. **Journal of Dairy Research**, v.71, p.1–6, 2004.

TURAN, H.; SÖNMEZ, G.; KAYA, Y. Fatty acid profile and proximate composition of the thornback ray (Raja clavata, L. 1758) from the Sinop coast in the Black Sea. **Journal Fish Science**, v.1, n.2, p.97-103, 2007.

ULBRICHT, T.L.V.; SOUTHGATE, D.A.T. Coronary heart disease: seven dietary factors. **The Lancet**, v.338, n.8773, p.985-92, 1991.

VISENTAINER, J.V.; FRANCO, M.R.B. **Ácidos Graxos em óleos e gorduras:** identificação e quantificação. São Paulo: Varela, 2006.

WOOD, J.D.; RICHARDSON, G.R.; NUTE, G.R.; FISHER, A.V.; CAMPO, M.M.; KASAPIDOU, E.; SHEARD, P.R.; ENSER, M. Effects of fatty acids on meat quality; a review. **Meat Science**, v.66, p.21-32, 2003.

VI - CONCLUSÕES FINAIS

Para vacas lactantes primíparas em pastagem tropical, pode-se incluir em até 389 g de glicerina bruta/kg do suplemento sem interferências produtivas, nutricionais, metabólicas e comportamentais, além de variáveis que expressam a qualidade do leite como CLA, relação do ômega 6 e 3, índice de trombogenicidade e a razão dos ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos.

As concentrações dos ácidos graxos saturados e monoinsaturados modificaram com a inclusão de glicerina bruta no suplemento de vacas lactantes em pastagem tropical.

Em virtude do custo do frete impactar na viabilidade de utilização de coprodutos, salienta-se a necessidade de verificação do funcionamento das indústrias próximas às propriedades, pois a maioria das plantas industriais do biodiesel encontra-se inativa.

VII – ANEXOS

Anexo A – Normas da Revista Brasileira de Zootecnia

Estrutura do artigo (artigo completo)

O artigo deve ser dividido em seções com título centralizado, em negrito, na seguinte ordem: Abstract, Introduction, Material and Methods, Results and Discussion, Conclusions, Acknowledgments (opcional) e References.

Não são aceitos subtítulos. Os parágrafos devem iniciar a 1,0 cm da margem esquerda.

Formatação de texto

O texto deve ser digitado em fonte Times New Roman 12, espaço duplo (exceto Abstract e Tabelas, que devem ser elaborados em espaço 1,5), margens superior, inferior, esquerda e direita de 2,5; 2,5; 3,5; e 2,5 cm, respectivamente.

O manuscrito pode conter até 25 páginas. As linhas devem ser numeradas da seguinte forma: Menu ARQUIVO/ CONFIGURAR PÁGINA/LAYOUT/NÚMEROS DE LINHA.../ NUMERAR LINHAS (numeração contínua) e a paginação deve ser contínua, em algarismos arábicos, centralizada no rodapé.

O arquivo deverá ser enviado utilizando a extensão .doc. Não enviar arquivos nos formatos pdf, docx, zip ou rar. Manuscritos com número de páginas superior a 25 (acatando-se o máximo de 30 páginas) poderão ser submetidos acompanhados de carta encaminhada ao Editor-chefe contendo justificativa para o número de páginas excedentes. Em caso de aceite da justificativa, a tramitação ocorrerá normalmente e, uma vez aprovado o manuscrito, os autores deverão arcar com o custo adicional de publicação por páginas excedentes. Caso não haja concordância com a justificativa por parte do Editor-chefe, o manuscrito será reencaminhado aos autores para adequação às normas, a qual deverá ser realizada no prazo máximo de 30 dias. Em caso do não recebimento da versão neste prazo, proceder-se-á ao cancelamento da tramitação (não haverá devolução da taxa de tramitação).

Título

Deve ser preciso, sucinto e informativo, com 20 palavras no máximo. Digitá-lo em negrito e centralizado, segundo o exemplo: Valor nutritivo da cana-de-açúcar para bovinos. Deve apresentar chamada de rodapé “1” somente quando a pesquisa foi financiada. Não citar “parte da tese...”.

Autores

A RBZ permite até oito autores. A primeira letra de cada nome/sobrenome deve ser maiúscula (Ex.: Anacleto José Benevenutto). Não listá-los apenas com as iniciais e o último sobrenome (Ex.: A.J. Benevenutto).

Digitar os nomes dos autores separados por vírgula, centralizado e em negrito, com chamadas de rodapé numeradas e em sobrescrito, indicando apenas a instituição à qual estavam vinculados à época de realização da pesquisa (instituição de origem), e não a atual. Não citar vínculo empregatício, profissão e titulação dos autores. Informar o endereço eletrônico somente do responsável pelo artigo.

Abstract

Deve conter no máximo 1.800 caracteres com espaços. As informações do abstract devem ser precisas. Abstracts extensos serão devolvidos para adequação às normas. Deve sumarizar objetivos, material e métodos, resultados e conclusões. Não deve conter introdução nem referências bibliográficas. O texto deve ser justificado e digitado em parágrafo único e espaço 1,5, começando por ABSTRACT, iniciado a 1,0 cm da margem esquerda.

Key Words

Apresentar até seis (6) Key Words imediatamente após o abstract, em ordem alfabética. Devem ser elaboradas de modo que o trabalho seja rapidamente resgatado nas pesquisas bibliográficas. Não podem ser retiradas do título do artigo. Digitá-las em letras minúsculas, com alinhamento justificado e separadas por vírgulas. Não devem conter ponto-final.

Introduction

Deve conter no máximo 2.500 caracteres com espaços, resumindo a contextualização breve do assunto, as justificativas para a realização da pesquisa e os objetivos do trabalho. Evitar discussão da literatura na introdução.

A comparação de hipóteses e resultados deve ser feita na discussão. Trabalhos com introdução extensa serão devolvidos para adequação às normas. Material and Methods Se for pertinente, descrever no início da seção que o trabalho foi conduzido de acordo com as normas éticas e aprovado pela Comissão de Ética e Biossegurança da instituição. Descrição clara e com referência específica original para todos os procedimentos biológicos, analíticos e estatísticos. Todas as modificações de procedimentos devem ser explicadas.

Results and Discussion

É facultada ao autor a feitura desta seção combinando-se os resultados com a discussão ou em separado, redigindo duas seções, com separação de resultados e discussão. Dados suficientes, todos com algum índice de variação, devem ser apresentados para permitir ao leitor a interpretação dos resultados do experimento. Na seção discussão deve-se interpretar clara e concisamente os resultados e integrá-los aos resultados de literatura para proporcionar ao leitor uma base ampla na qual possa aceitar ou rejeitar as hipóteses testadas. Evitar parágrafos soltos, citações pouco relacionadas ao assunto e cotejamentos extensos.

Conclusions

Devem ser redigidas em parágrafo único e conter no máximo 1.000 caracteres com espaço. Resuma claramente, sem abreviações ou citações, as inferências feitas com base nos resultados obtidos pela pesquisa. O importante é buscar entender as generalizações que governam os fenômenos naturais, e não particularidades destes fenômenos. As conclusões são apresentadas usando o presente do indicativo.

Acknowledgments

Esta seção é opcional. Deve iniciar logo após as Conclusões.

Abreviaturas, símbolos e unidades

Abreviaturas, símbolos e unidades devem ser listados conforme indicado na página da RBZ, link "Instruções aos autores", "Abreviaturas". Deve-se evitar o uso de abreviações não-consagradas, como por exemplo: "o T3 foi maior que o T4, que não diferiu do T5 e do T6". Este tipo de redação é muito cômoda para o autor, mas é de difícil compreensão para o leitor. Os autores devem consultar as diretrizes estabelecidas regularmente pela RBZ quanto ao uso de unidades.

Tabelas e Figuras

É imprescindível que todas as tabelas sejam digitadas segundo menu do Microsoft® Word "Inserir Tabela", em células distintas (não serão aceitas tabelas com valores separados pelo recurso ENTER ou coladas como figura). Tabelas e figuras enviadas fora de normas serão devolvidas para adequação. Devem ser numeradas sequencialmente em algarismos arábicos e apresentadas logo após a chamada no texto.

O título das tabelas e figuras deve ser curto e informativo, evitando a descrição das variáveis constantes no corpo da tabela. Nos gráficos, as designações das variáveis dos eixos X e Y devem ter iniciais maiúsculas e unidades entre parênteses.

Figuras não-originais devem conter, após o título, a fonte de onde foram extraídas, que deve ser referenciada. As unidades, a fonte (Times New Roman) e o corpo das letras em todas as figuras devem ser padronizados. Os pontos das curvas devem ser representados por marcadores contrastantes, como círculo, quadrado, triângulo ou losango (cheios ou vazios). As curvas devem ser identificadas na própria figura, evitando o excesso de informações que comprometa o entendimento do gráfico. As figuras devem ser gravadas nos programas Microsoft® Excel ou Corel Draw® (extensão CDR), para possibilitar a edição e possíveis correções. Usar linhas com no mínimo 3/4 ponto de espessura. As figuras deverão ser exclusivamente monocromáticas. Não usar negrito nas figuras. Os números decimais apresentados no interior das tabelas e figuras dos manuscritos em inglês devem conter ponto, e não vírgula. As fórmulas matemáticas e equações devem ser digitadas no Microsoft Equation e inseridas no texto como objeto.

Citações no texto

As citações de autores no texto são em letras minúsculas, seguidas do ano de publicação. Quando houver dois autores, usar & (e comercial) e, no caso de três ou mais autores, citar apenas o sobrenome do primeiro, seguido de et al. Comunicação pessoal (ABNT-NBR 10520).

Somente podem ser utilizadas caso sejam estritamente necessárias ao desenvolvimento ou entendimento do trabalho. Contudo, não fazem parte da lista de referências, por isso são colocadas apenas em nota de rodapé. Coloca-se o sobrenome do autor seguido da expressão "comunicação pessoal", a data da comunicação, o nome, estado e país da instituição à qual o autor é vinculado.

Referências

Baseia-se na Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT (NBR 6023).

As referências devem ser redigidas em página separada e ordenadas alfabeticamente pelo(s) sobrenome(s) do(s) autor(es).

Digitá-las em espaço simples, alinhamento justificado e recuo até a terceira letra a partir da segunda linha da referência. Para formatá-las, siga as seguintes instruções:

No menu FORMATAR, escolha a opção PARÁGRAFO... RECUO ESPECIAL, opção DESLOCAMENTO... 0,6 cm.

Em obras com dois e três autores, mencionam-se os autores separados por ponto-e-vírgula e, naquelas com mais de três autores, os três primeiros seguidos de et al. As

iniciais dos autores não podem conter espaços. O termo et al. não deve ser italizado nem precedido de vírgula. Indica(m)-se o(s) autor(es) com entrada pelo último sobrenome

seguido do(s) prenome(s) abreviado (s), exceto para nomes de origem espanhola, em que entram os dois últimos sobrenomes.

O recurso tipográfico utilizado para destacar o elemento título é negrito. No caso de homônimos de cidades, acrescenta-se o nome do estado (ex.: Viçosa, MG; Viçosa, AL; Viçosa, RJ). Obras de responsabilidade de uma entidade coletiva A entidade é tida como autora e deve ser escrita por extenso, acompanhada por sua respectiva abreviatura. No texto, é citada somente a abreviatura correspondente. Quando a editora é a mesma instituição responsável pela autoria e já tiver sido mencionada, não deverá ser citada novamente.

Livros e capítulos de livro

Os elementos essenciais são: autor(es), título e subtítulo (se houver), seguidos da expressão "In:", e da referência completa como um todo. No final da referência, deve-se informar a paginação. Quando a editora não é identificada, deve-se indicar a expressão sine nomine, abreviada, entre colchetes [s.n.]. Quando editor e local não puderem ser indicados na publicação, utilizam-se ambas as expressões, abreviadas, e entre colchetes [S.I.: s.n.].

Teses e Dissertações

Recomenda-se não citar teses e dissertações. Deve-se procurar referenciar sempre os artigos publicados na íntegra em periódicos indexados. Excepcionalmente, se necessário citar teses e dissertações, indicar os seguintes elementos: autor, título, ano, página, nível e área do programa de pós-graduação, universidade e local.

Artigos

O nome do periódico deve ser escrito por extenso. Com vistas à padronização deste tipo de referência, não é necessário citar o local; somente volume, intervalo de páginas e ano. Citações de artigos aprovados para publicação deverão ser realizadas preferencialmente acompanhadas do respectivo DOI.

Congressos, reuniões, seminários etc

Citar o mínimo de trabalhos publicados em forma de resumo, procurando sempre referenciar os artigos publicados na íntegra em periódicos indexados.

Artigo e/ou matéria em meios eletrônicos

Na citação de material bibliográfico obtido via internet, o autor deve procurar sempre usar artigos assinados, sendo também sua função decidir quais fontes têm realmente credibilidade e confiabilidade. Quando se tratar de obras consultadas on-line, são essenciais as informações sobre o endereço eletrônico, apresentado entre os sinais < >, precedido da expressão "Available at:" e a data de acesso do documento, precedida da expressão "Accessed on:".

Citações de softwares estatísticos

A RBZ não recomenda a citação bibliográfica de softwares aplicados a análises estatísticas. A utilização de programas deve ser informada no texto (Material e Métodos) incluindo o procedimento específico e o nome do software com sua versão e/ou ano de lançamento. "... os procedimentos estatísticos foram conduzidos utilizando-se o PROC MIXED do SAS (Statistical Analysis System, versão 9.2.)"

Anexo B – Normas da Revista Semina: Ciências Agrárias

Apresentação dos Trabalhos

Os originais completos dos artigos, comunicações, relatos de casos e revisões podem ser escritos em português, inglês ou espanhol, no editor de texto Word for Windows, com espaçamento 1,5, em papel A4, fonte Times New Roman, tamanho 11 normal, com margens esquerda e direita de 2 cm e superior e inferior de 2 cm, respeitando-se o número de páginas, devidamente numeradas, de acordo com a categoria do trabalho. Figuras (desenhos, gráficos e fotografias) e Tabelas serão numeradas em algarismos arábicos e devem estar separadas no final do trabalho.

As figuras e tabelas deverão ser apresentadas nas larguras de 8 ou 16 cm com altura máxima de 22 cm, lembrando que se houver a necessidade de dimensões maiores, no processo de editoração haverá redução para as referidas dimensões. As legendas das figuras deverão ser colocadas em folha separada obedecendo à ordem numérica de citação no texto. Fotografias devem ser identificadas no verso e desenhos e gráfico na parte frontal inferior pelos seus respectivos números do texto e nome do primeiro autor. Quando necessário deve ser indicado qual é a parte superior da figura para o seu correto posicionamento no texto.

Preparação dos manuscritos

Artigo científico

Deve relatar resultados de pesquisa original das áreas afins, com a seguinte organização dos tópicos: Título; Título em inglês; Resumo com Palavras-chave (no máximo seis palavras); Abstract com Key words (no máximo seis palavras); Introdução; Material e Métodos; Resultados e Discussão com as conclusões no final ou Resultados, Discussão e Conclusões separadamente; Agradecimentos; Fornecedores, quando houver e Referências Bibliográficas. Os tópicos devem ser escritos em letras maiúsculas e minúsculas e destacados em negrito, sem numeração. Quando houver a necessidade de subitens dentro dos tópicos, os mesmos devem receber números arábicos. O trabalho submetido não pode ter sido publicado em outra revista com o mesmo conteúdo, exceto na forma de resumo de congresso, nota prévia ou formato reduzido.

A apresentação do trabalho deve obedecer à seguinte ordem:

1. *Título do trabalho,* acompanhado de sua tradução para o inglês.
2. *Resumo e Palavras-chave*: Deve ser incluído um resumo informativo com um mínimo de 150 e um máximo de 300 palavras, na mesma língua que o artigo foi escrito, acompanhado de sua tradução para o inglês (*Abstract e Key words*).
3. *Introdução*: Deverá ser concisa e conter revisão estritamente necessária à introdução do tema e suporte para a metodologia e discussão.

4. *Material e Métodos*: Poderá ser apresentado de forma descritiva contínua ou com subitens, de forma a permitir ao leitor a compreensão e reprodução da metodologia citada com auxílio ou não de citações bibliográficas.
5. *Resultados e discussão com conclusões ou Resultados, Discussão e Conclusões:* De acordo com o formato escolhido, estas partes devem ser apresentadas de forma clara, com auxílio de tabelas, gráficos e figuras, de modo a não deixar dúvidas ao leitor, quanto à autenticidade dos resultados, pontos de vistas discutidos e conclusões sugeridas.
6. *Agradecimentos*: As pessoas, instituições e empresas que contribuíram na realização do trabalho deverão ser mencionadas no final do texto, antes do item Referências Bibliográficas.

Observações:

Quando for o caso, antes das referências, deve ser informado que o artigo foi aprovado pela comissão de bioética e foi realizado de acordo com as normas técnicas de biosegurança e ética.

Notas: Notas referentes ao corpo do artigo devem ser indicadas com um símbolo sobrescrito, imediatamente depois da frase a que diz respeito, como notas de rodapé no final da página.

Figuras: Quando indispensáveis figuras poderão ser aceitas e deverão ser assinaladas no texto pelo seu número de ordem em algarismos arábicos. Se as ilustrações enviadas já foram publicadas, mencionar a fonte e a permissão para reprodução.

Tabelas: As tabelas deverão ser acompanhadas de cabeçalho que permita compreender o significado dos dados reunidos, sem necessidade de referência ao texto.

Grandezas, unidades e símbolos: Deverá obedecer às normas nacionais correspondentes (ABNT).

7. *Citações dos autores no texto*: Deverá seguir o sistema de chamada alfabética seguidas do ano de publicação de acordo com os seguintes exemplos:

a) Os resultados de Dubey (2001) confirmam que .....

b) De acordo com Santos et al. (1999), o efeito do nitrogênio.....

c) Beloti et al. (1999b) avaliaram a qualidade microbiológica.....

d) [...] e inibir o teste de formação de sincício (BRUCK et. al., 1992).

e) [...]comprometendo a qualidade de seus derivados (AFONSO; VIANNI, 1995).

Citações com três autores

Dentro do parêntese, separar por ponto e vírgula.

Ex: (RUSSO; FELIX; SOUZA, 2000).

Incluídos na sentença, utilizar virgula para os dois primeiros autores e (e) para separar o segundo do terceiro. Ex: Russo, Felix e Souza (2000), apresentam estudo sobre o tema....

Citações com mais de três autores

Indicar o primeiro autor seguido da expressão et al.

Observação: Todos os autores devem ser citados nas Referências Bibliográficas.

8. Referências Bibliográficas: As referências bibliográficas, redigidas segundo a norma NBR 6023, ago. 2000, da ABNT, deverão ser listadas na ordem alfabética no final do artigo. Todos os autores participantes dos trabalhos deverão ser relacionados, independentemente do número de participantes (única exceção à norma – item 8.1.1.2). A exatidão e adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto do artigo, bem como opiniões, conceitos e afirmações são da inteira responsabilidade dos autores.

Anexo C – Normas da Revista Scientia Agricola

Preparação do manuscrito

- Texto e ilustrações submetidos à apreciação pelo corpo editorial devem ser escritos em língua inglesa, segundo as regras ortográficas e gramáticas norte-americana.
- Manuscritos devem ser organizados em um arquivo denominado documento principal e em arquivos separados contendo tabelas e figuras. MS Word ou software compatível devem ser utilizados para preparar o documento principal, fonte Times New Roman 12, 3.0 cm de margens e duplo espaço. Organize o documento principal na seguinte ordem: Página de rosto, Resumo (máximo de 250 palavras), Introdução (normalmente 20-30 linhas), Materiais e Métodos, Resultados, Discussão, Agradecimentos (opcional), Referências, e Legendas das Figuras.
- O item Conclusão é opcional e, quando utilizado deverá vir após a seção de discussão. O item Resultados e Discussão podem ser combinados e, a conclusão pode ser incorporada à discussão.
- O manuscrito deve ter um máximo de 30 páginas (papel A4); linhas e páginas devem ser numeradas sequencialmente, ilustrações e tabelas inclusive.
- Tabelas e Figuras devem ser carregadas no sistema em arquivos separados, somente uma tabela ou figura por arquivo.

Página de rosto:

- Cada artigo deve conter uma página de rosto contendo o título (máximo de 15 palavras), os nomes completos dos autores, e afiliações completas em inglês.
- Deverá ser fornecido um título abreviado de 40 caracteres ou menos (além do título do trabalho completo).
- Os autores devem selecionar uma categoria: Engenharia Agrícola; Microbiologia Agrícola; Agrometeorologia; Ciência Animal e Pastagens; Biometria, Modelagem e Estatística; Fitotecnia; Ecologia; Entomologia; Ciência e Tecnologia de Alimentos; Ciências Florestais; Genética e Melhoramento de Plantas; Fitopatologia; Fisiologia Vegetal e Bioquímica; Solos e Nutrição de Plantas; e Zoologia.
- O autor correspondente deve ser identificado(a) por um asterisco e um endereço eletrônico institucional do autor(a) correspondente deve ser informado.
- A afiliação/endereço funcional dos autores(as) deve ser informado da maneira mais detalhada possível.
- O autor correspondente deverá assumir a responsabilidade plena pelo manuscrito, incluindo o cumprimento das políticas do periódico, e será o contato prioritário com a revista. O autor que submete o artigo pode assumir essa função se indicado na carta de apresentação.
- Por favor, forneça afiliação institucional de cada autor no momento que a pesquisa foi realizada.
- Se um autor se mudou para uma instituição diferente, o novo local pode ser indicado em nota de rodapé. Números sobrescritos separados por vírgulas (sem

espaços) são utilizados para filiações dos autores. Símbolos sobrescritos separados por vírgulas (sem espaços) são utilizados para notas de rodapé do autor.

Submissão de imagem para a capa:

A capa da *Scientia Agricola* poderá utilizar uma imagem representativa de um artigo publicado no volume. Os autores são convidados a submeter imagens para a capa que tenham apelo visual e que sejam cientificamente interessantes. As imagens devem ter alta resolução (300dpi) e medir 17 x 17cm. As imagens para a capa podem ser de organismos, habitat, montagens de diferentes imagens, diagramas, mapas ou dados. As ilustrações não precisam estar nos artigos, devem sim ser representativas do trabalho publicado. As imagens devem ser originais e os autores cedem os direitos de publicação exclusivamente a *Scientia Agricola*. Carregue o arquivo contendo a imagem como um arquivo suplementar junto com um arquivo texto que deverá conter uma breve descrição de um parágrafo da imagem relacionando-a com o manuscrito publicado. Se o autor não tiver os direitos autorais da imagem submetida, ele é responsável por obter a permissão necessária para poder utilizá-la.

Tabelas e Figuras

Tabelas:

- Devem ser numeradas sequencialmente com algarismos arábicos, e geradas com a ferramenta "Tabela" do MS Word ou MS Excel (manuscritos contendo tabelas coladas como figuras serão devolvidos aos autores).
- Os títulos das tabelas devem aparecer imediatamente acima do corpo das tabelas.
- Numere figuras e gráficos sequencialmente usando algarismos arábicos.

Figuras/Gráficos:

- Gráficos devem ser gerados em MS Excel.
- Fotografias devem ser apresentadas como arquivo "tagged image format [TIFF]", 300 DPI.
- Numere figuras e gráficos sequencialmente na ordem em que aparecem no texto.
- As figuras devem fornecer informações suficientes para que o leitor possa compreendê-las sem uma contribuição significativa do texto.
- Para as figuras que contêm mais de um painel, designar os painéis com letras maiúsculas (sem parênteses e sem pontos após as letras) no canto superior esquerdo de cada painel, se possível.
- As palavras utilizadas nas figuras devem ser iguais as utilizadas no manuscrito no que diz respeito à capitalização, itálico e símbolos.

Informações complementares

- Manuscritos que avaliem a bioatividade de produtos químicos e/ou biológicos, incluindo reguladores do crescimento, em insetos, ácaros, fungos, bactérias,

nematóides e plantas daninhas, não serão objeto de análise para publicação na *Scientia Agricola*.

- Manuscritos que avaliem melhorias ou protocolos de cultura de tecidos baseados no teste de aditivos, explantes ou condições de crescimento, ou ainda que falhem em mostrar uma melhoria substancial que não poderia ser deduzida da literatura existente, não serão considerados para publicação na *Scientia Agricola*.
- Os manuscritos devem obedecer aos critérios estabelecidos nos Códigos Internacionais de cada área.
- Os conceitos e opiniões contidos nos artigos são de exclusiva responsabilidade dos(as) autores(as).

Referências Bibliográficas

Scientia Agricola não encoraja os autores a citar referências que não são facilmente acessadas e compreendidas pelos leitores. A citação de resumos de congressos, artigos técnicos, dissertações e teses não é permitida. Favor reavaliar a necessidade de referências em português e outra língua além do inglês, minimizando-a o máximo possível. Quando essas referências forem extremamente necessárias, os autores devem providenciar uma explicação por mantê-las no texto. Tais referências devem ser citadas em inglês, mantendo a citação na língua original no final da referência.

Scientia Agricola não recomenda que os autores citem análises estatísticas ou soluções de softwares como referências. Essas ferramentas devem ser mencionadas no texto (Material e Métodos) ao incluir a análise específica e o nome do software, sua versão e/ou ano de lançamento. Por exemplo, "... a análise estatística foi realizada utilizando o PROC NLIN no SAS (Statistical Analysis System, versão 9.2)".

As referências e citações para artigos da *Scientia Agricola* serão formatadas utilizando o estilo de formato mínimo 'autor, ano' ou 'nome (ano)'. Checar se todas as citações no texto constam da lista de referências bibliográficas. Os exemplos:

1. Apenas um autor: Reichardt (2000) ou (Reichardt, 2000).
2. Dois autores: Fiorio and Demattê (2009) ou (Fiorio and Demattê, 2009).
3. Três ou mais autores: Rosso et al. (2009) ou (Rosso et al., 2009).
4. Organizar as referências em ordem alfabética e cronologicamente dentro de parênteses, e use (;) ponto e vírgula para separar citações múltiplas dentro de parênteses, por exemplo: (Boleli, 2003; Boerjan, 2006; Muraroli and Mendes, 2003).
5. Identificar múltiplas citações 'mesmo autor, mesma data' com a ajuda de letras minúsculas, por exemplo: (Cyrino, 2004a, b).
6. Usar o estilo "autor-ano" para ordenar a lista de referências, e: (i) abreviar os primeiros e segundos nomes dos autores, mas nenhuma outra palavra; (ii) usar letras maiúsculas para todos os acrônimos, isto é, quando o autor for uma organização; (iii) utilizar letras maiúsculas para a 1ª letra do sobrenome e demais inicias dos autores, que deverão ser separados por um ponto (.); (iv) separar autores por ponto-e-vírgula; (v) não usar "e comercial" (&) nas citações, nem na lista de referência; (vi) não usar caracteres grifados ou negritados para destacar qualquer parte da referência; (vii) usar letras maiúsculas na 1ª letra dos títulos de livros e de periódicos; (viii) não usar vírgula (,) para separar o título e o volume do periódico; (ix) separar os números de volume do periódico das páginas por dois pontos (:); (x) usar os números completos das páginas; (xi) separar os números de página por um traço (-); (xii) separar os grupos de páginas por uma vírgula se o artigo foi publicado em páginas descontinuas; (xiii) indicar o

número da edição de um livro ou manual como "2ed", por exemplo; (xiv) sobre livros e manuais, indicar os editores ou a editora antes de discriminar a localidade sede dos editores ou da editora; (xv) separar os editores ou a editora da localidade por meio de uma vírgula (,); e (xvi) nestes casos, declarar os nomes da cidade, do estado e do país.

6.1 Revistas/Periódicos Científicos

Guillard, R.R.L.; Wangersky, P. 1958. The production of extracellular __carbohydrates by some marine flagellates. Limnology and __Oceanography 3: 449-454.

6.2 Livros

6.2.1 Livros com autores

Pais, I.; Jones Jr., J.R. 1998. The Handbook of Trace Elements. St. Lucie __Press, Boca Raton, FL, USA.

6.2.2 Livros com editores/organizadores

Day, W.; Atkin, R.K., eds. 1985. Wheat Growth and Modelling. Plenum __Press, New York, NY, USA.

6.2.3 Livros (e manuais) com organização/instituição como autor ou editora/organizadora

Association of Official Analytical Chemists - International [AOAC]. 2005. __Official Methods of Analysis. 18ed. AOAC, Gaithersburg, MD, USA.

6.3 Capítulo de Livro

Sharpley, A.N.; Rekolainen, S. 1997. Phosphorus in agriculture and its __environmental implications. p. 1-53. *In*: Tunney, H.; Carton, O.T.; __Brookes, P.C.; Johnston, A.E., eds. Phosphorus loss from soil to __water. CAB International, New York, NY, USA.

6.4 Fontes eletrônicas

6.4.1 Elementos necessários para listar citações disponíveis on-line:
A autoria, autor ou fonte. Ano. O título do documento da web ou página __da web (isto é, título principal da pagina). [meio] (data de __atualização). Disponível em: endereço completo para localizar o __recurso (URL / endereço) [Accessed Sept 19, 1992]

6.4.2 Elementos necessários para listar publicações disponíveis on-line:
A autoria, autor ou fonte. Ano. O título do documento ou página da web. __ [meio] Produtor/Editor. Disponível em: endereço completo para __localizar o recurso [Accessed Sept 19, 1992]

6.5 Listagem de referências não escritas em inglês

Fornecer o título em inglês e indicar a língua original de publicação da revista ao final da referência, como exemplo a baixo:

Baretta, D.; Santos, J.C.P.; Figueiredo, S.R.; Klauberg-Filho, O. 2005. __Effects of native pasture burning and Pinus monoculture on changes __in soil biological attributes on the Southern Plateau - Brazil of Santa __Catarina Revista Brasileira de Ciência do Solo 29: 715-724 (in __Portuguese, with abstract in English).

Mingoti, A.S. 2005. Data analysis using multivariate statistics methods: an applied approach. = Análise de Dados Através de Métodos de Estatística Multivariada: uma abordagem aplicada. Editora UFMG, Belo Horizonte, MG, Brazil (in Portuguese).