

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Desempenho e metabolismo de bezerros leiteiros em aleitamento convencional recebendo concentrado inicial contendo glicerol em substituição ao milho

Gustavo Guilherme Oliveira Nápoles

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência Animal e Pastagens

**Piracicaba
2012**

**Gustavo Guilherme Oliveira Nápoles
Engenheiro Agrônomo
Zootecnista**

**Desempenho e metabolismo de bezerros leiteiros em aleitamento convencional
recebendo concentrado inicial contendo glicerol em substituição ao milho**

Orientadora:
Profa. Dra. **CARLA MARIS MACHADO BITTAR**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência
Animal e Pastagens

**Piracicaba
2012**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP**

Nápoles, Gustavo Guilherme Oliveira

Desempenho e metabolismo de bezerros leiteiros em aleitamento convencional recebendo concentrado inicial contendo glicerol em substituição ao milho / Gustavo Guilherme Oliveira Nápoles. - - Piracicaba, 2012.

91 p: il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2012.

1. Aleitamento animal 2. Bezerros 3. Crescimento animal 4. Glicose 5. Rúmen - Desenvolvimento 6. Sucedâneo do leite para animais 7. Suplemento concentrados para animais I. Título

CDD 636.214
N216d

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Aos meus amados pais, Nápoles e Alzira.
As minhas queridas irmãs, Fernanda e Daniele.
A minha querida companheira, Thaíse.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus, por estar sempre presente em meu coração me orientando para o bem.

Aos meus amados pais Alzira e Nápoles, irmãs Daniele e Fernanda pela dedicação, apoio, amor incondicional e exemplo a ser seguido.

A Thaíse Latini pelo amor, carinho, dedicação e companheirismo em vários momentos.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo e ao Departamento de Zootecnia pela oportunidade de realização do mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de estudo (Processo 2011/01411-9).

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento do projeto (Processo 2010/50240-0).

À Universidade Federal de Viçosa pela enorme contribuição com a minha formação acadêmica.

A minha orientadora, Prof^a Dra Carla Maris Machado Bittar, pela sua dedicação, presença, amizade, apoio e oportunidade de aprendizado.

Aos amigos do Grupo de Estudos em Metabolismo Animal, Carlos Oltramari (Dudu), Mariana Gallo (Cocó), Jackeline Silva, Lucas Ferreira, Marília de Paula, Marcelo Soares, Diandra Lezier, Giovana Slanzon, Flávia Rocha e Márcio Soares pelo companheirismo, trabalho em equipe, apoio e dedicação na condução do experimento.

A coordenação do curso de Pós-Graduação em Ciência Animal e Pastagens e principalmente ao Prof. Dr. Sila Carneiro da Silva pelo exemplo de dedicação.

Ao Prof. Dr. José Eurico Possebon Cyrino pela amizade, dedicação, conselhos, ensinamentos valiosos e por disponibilizar o laboratório do Departamento de Piscicultura da ESALQ.

Ao Prof. Dr. José Fernando Machado Menten pelo fornecimento da glicerina bruta e por disponibilizar a utilização da fábrica de ração do setor de Avicultura da ESALQ.

À Prof^a Dra Ivanete Susin pelo fornecimento dos ingredientes utilizados nos concentrados experimentais e por disponibilizar a fábrica de ração do setor de Ovinocultura e Caprinocultura da ESALQ.

Ao Prof. Dr. Gerson Barreto Mourão e Dr. Lucas Silveira Ferreira, pela valiosa contribuição nas análises estatísticas.

A todos os professores do Departamento de Zootecnia da ESALQ que através de suas aulas contribuíram de forma valiosa para meu crescimento e amadurecimento científico e profissional.

Aos funcionários do setor de Ovinocultura da ESALQ, Sr. Marcos, Sr. Joseval e ao pós Doutorando Renato Gentil (Shimú) pela amizade e apoio sempre que requisitados.

Aos funcionários do Laboratório de Bromatologia do Departamento de Zootecnia da ESALQ, Alan dos Santos Lopes, Carlos César Alves e Tânia Aparecida Ferri pela amizade, ensinamentos e ajuda com as análises laboratoriais.

Aos funcionários da Fábrica de Ração do setor de Monogástricos da ESALQ, e principalmente ao Antônio Carlos Oliva (Carlão), Ednézio Klimasewski e José Augusto, pela amizade e apoio sempre que solicitados.

Ao Danilo do Prado Perina e Mariana Gallo por serem os amigos de todas as horas, pela ajuda com a dissertação, pelo carinho e pelos momentos felizes compartilhados.

A Cléo Fialho, por me receber tão bem em Piracicaba, pelo carinho, pela confiança, amizade e pelos momentos de alegria.

Ao amigos Carlos Eduardo Oltramari, Mariana Pompeo de Camargo Gallo e Jackeline Thaís Silva pela parceria, apoio e pela valiosa ajuda nos momentos de dificuldade durante o mestrado.

Aos amigos Luciano (Lú), Elisa Matos, Ana Buono, Paulo Roger (Agostinho Carrara), Felipe Galupo (Pidinte), Arlete Barneze, Alice Cassetari e tantos outros pela amizade e momentos de alegria compartilhados.

Ao Dr. Alexandre Pedroso (Bolo) e todo o pessoal da pizzaria “Florença” pela oportunidade, confiança, amizade e momentos de alegria.

Aos amigos e companheiros do grupo de volei da Esalq, do Futebol no “Bom de Bola” e do grupo de dança de salão da ESALQ pelos momentos de descontração e alegria nos jogos.

Aos amigos das “Reuniões Monxtruordinárias” às terças no “escritório” (MANGA ROSA) Monxtru Biro, Monxtru Dudu, Monxtru Fábio e Munxtru Greg pela parceria e momentos de alegria compartilhados.

Aos amigos e companheiros de república, Carlos Oltramari, Diego Pequeno, Daniel Junges pelo convívio harmônico, parceria e pelos ótimos momentos compartilhados.

Aos amigos de pós-graduação na ESALQ Milla de Souza, Leonardo Willian de Freitas, Michele Bernardino de Lima, Jacqueline Geraldo de Lima, Gislaine Romano, Fábio Dossi, Maicon Sbardella, Lucas Chagas, Tati Beloni, Fabiane Costa, Álvaro, Aliédson, Pâmela Rizo, Rafaela Pereira, Valdson Silva, Carolina Guerra, Amália Saturnino, Renato Priole, Fábio Pertille, Marilis, Fabrícia, Max, Adriano Anselmi e a tantos outros que conheci durante o mestrado e que por ventura não tenham o nome aqui escrito mas que também tornaram minha vida mais feliz.

E a todos que incentivaram, participaram ou que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

EPÍGRAFE

"O planeta não precisa de mais 'pessoas de sucesso'. O planeta precisa desesperadamente de mais pacificadores, curadores, restauradores, contadores de histórias e amantes de todo tipo. Precisa de pessoas que vivam bem nos seus lugares. Precisa de pessoas com coragem moral dispostas a aderir à luta para tornar o mundo habitável e humano, e essas qualidades têm pouco a ver com o sucesso tal como a nossa cultura o tem definido."

Dalai Lama

"Não deixe que a saudade sufoque, que a rotina acomode, que o medo impeça de tentar. Desconfie do destino e acredite em você. Gaste mais horas realizando que sonhando, fazendo que planejando, vivendo que esperando, porque embora quem quase morre esteja vivo, quem quase vive já morreu."

Luiz Fernando Veríssimo

SUMÁRIO

RESUMO.....	13
ABSTRACT	15
LISTA DE FIGURAS	17
LISTA DE TABELAS	19
1 INTRODUÇÃO	21
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	25
2.1 Biodiesel e glicerina bruta	25
2.2 Caracterização e obtenção da glicerina	26
2.3 Metabolismo do glicerol.....	29
2.4 Desenvolvimento ruminal e metabolismo de bezerros lactentes.....	32
2.5 Glicerina bruta na alimentação de bovinos jovens	34
3 MATERIAL E MÉTODOS	39
3.1 Animais, instalações e manejo alimentar	39
3.2 Análises químico-bromatológicas.....	40
3.3 Avaliação do desempenho e desenvolvimento corporal	42
3.4 Escore fecal e sanidade	42
3.5 Colheita de fluido ruminal e metodologia analítica	42
3.5.1 Colheita de fluido ruminal e determinação do pH.....	42
3.5.2 Determinação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC).....	43
3.6 Colheita de sangue e metodologia analítica.....	43
3.6.1 Colheita de sangue	43
3.6.2 Determinação de glicose plasmática.....	43
3.6.3 Determinação de lactato plasmático	44
3.6.4 Determinação de proteínas totais no plasma	44
3.6.5 Determinação de β -hidroxibutirato no plasma.....	44
3.7 Avaliação morfométrica do trato digestório superior e desenvolvimento ruminal.....	45
3.7.1 Avaliação morfométrica do trato digestório superior	45
3.7.2 Avaliação do desenvolvimento ruminal	45
3.8 Análise estatística	46
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
4.1 Consumo e desempenho	49
4.2 Escore fecal.....	57
4.3 Parâmetros ruminais	59

4.4 Parâmetros sanguíneos.....	67
4.5 Desenvolvimento do trato digestório superior.....	74
5 CONCLUSÕES.....	79
REFERÊNCIAS	81

RESUMO

Desempenho e metabolismo de bezerros leiteiros em aleitamento convencional recebendo concentrado inicial contendo glicerol em substituição ao milho

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da substituição de milho por glicerina bruta no concentrado inicial, sobre o desempenho e alterações no metabolismo energético de bezerros em aleitamento. Vinte e quatro bezerros da raça Holandês recém-nascidos foram alojados em abrigos individuais até a 8ª semana de vida, com livre acesso à água, sendo alimentados com 4 litros de sucedâneo/dia e concentrado *ad libitum*. Os animais foram distribuídos em blocos casualizados de acordo com a data de nascimento e peso ao nascer, e alocados em um dos seguintes tratamentos, de acordo com a inclusão de glicerina em substituição ao milho no concentrado inicial: 1) 0% Glicerina bruta; 2) 5% Glicerina bruta; 3) 10% Glicerina bruta. O aleitamento foi realizado duas vezes ao dia (07 e 17h) com sucedâneo comercial (22% proteína bruta; 19% extrato etéreo). O consumo de concentrado inicial e o escore fecal foram registrados diariamente, enquanto que a pesagem e as medidas de altura na cernelha, perímetro torácico e largura da garupa foram realizadas semanalmente, a partir da segunda semana, até a oitava semana. A partir da segunda semana, foram realizadas colheitas semanais de amostras de sangue, duas horas após o aleitamento da manhã, para determinação das concentrações plasmáticas de glicose, lactato, proteínas totais e β -hidroxibutirato (BHBA). Nas semanas 4, 6 e 8 de idade foram colhidas amostras de fluido ruminal, utilizando-se sonda oroesofágica e bomba a vácuo, para determinação do pH e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Na oitava semana, se encerrou o período experimental e os animais foram abatidos para avaliação do desenvolvimento do trato digestório superior e de papilas ruminais. O consumo de concentrado inicial, o ganho de peso diário e o peso vivo não apresentaram diferenças ($P>0,05$) entre os tratamentos. As medidas corporais, não apresentaram diferenças significativas ($P>0,05$). A média encontrada dos escores fecais durante todo o período experimental sugere baixa frequência de diarreia nos animais. Dentre os parâmetros ruminais avaliados, apenas o propionato e a relação acetato:propionato foram afetados ($P<0,05$) pelos tratamentos, apresentando menores valores de propionato em animais consumindo concentrado com 5% de glicerina bruta e menor relação acetato:propionato encontrados para os animais recebendo glicerina, este último em resposta ao tipo de fermentação do glicerol. Os parâmetros sanguíneos avaliados (glicose, BHBA, lactato e proteínas totais), não foram afetados pelos diferentes tratamentos ($P<0,05$), apresentando valores adequados. O peso total do trato digestório superior, os pesos médios de cada compartimento e a capacidade máxima do retículo-rúmen não foram afetados pelos tratamentos, assim como os parâmetros de desenvolvimento do epitélio ruminal. A glicerina pode ser utilizada como ingrediente energético alternativo até a taxa de 10% de substituição ao milho do concentrado inicial de bezerros leiteiros no período de aleitamento sem afetar o crescimento, o desenvolvimento ou o metabolismo do animal.

Palavras-chave: Coprodutos; Crescimento; Desenvolvimento ruminal; Glicose; Papilas ruminais; Subproduto

ABSTRACT

Performance and metabolism of dairy calves on conventional milk feeding receiving initial concentrate containing crude glycerin as a replacement for corn

The purpose of this study was to evaluate the effect of the replacement of corn by crude glycerin in the starter concentrate on performance and energy metabolism of dairy calves. Twenty-four newborns Holstein calves were housed in individual shelters until the eighth week of age, fed 4 liters of milk / day and ad libitum water and concentrate. The animals were distributed in randomized blocks according to the birth date and birth weight, and assigned to one of the following treatments, in accordance with the inclusion of glycerin replacing corn in the starter concentrate: 1) 0% Crude glycerin, 2) 5% Crude glycerin; 3) 10% Crude glycerin. Milk-feeding was performed twice daily (07 and 17h) with commercial milk replacer (22% crude protein, 19% ether extract). The initial feed intake and fecal scores were recorded daily, while weighing and measurements of height at withers, heart girth and hip width were measured from second week to eighth week. From the second week of age, blood samples were collected once a week, two hours after morning feeding, for determination of plasma glucose, lactate, total proteins and β -hydroxybutyrate (BHBA) concentrations. Ruminal fluid was collected at 4, 6 and 8 weeks using an oro-ruminal probe and a suction pump for determination of pH and short-chain fatty acids (SCFA). At the end of eighth week of life, animals were slaughtered to evaluate development of the upper digestive tract and rumen papillae. Feed intake, average daily gain and body weight did not differ ($P>0.05$) among treatments. No differences was observed for body measurements ($P>0.05$). The fecal scores suggested low frequency of severe diarrhea in animals. Among the ruminal parameters, only propionate and acetate: propionate ratio were affected ($P<0.05$) by treatments, with smaller amounts of propionate for animals fed concentrate containing 5% of crude glycerin; and lower acetate: propionate ratio for animals receiving glycerin, because of the type of glycerol fermentation. Blood parameters (glucose, BHBA, total protein and lactate) were not affected by treatments ($P<0.05$), presenting adequate values. The total forestomach weight, the average weight of each compartment and the maximum capacity of reticulum-rumen were not affected by treatments, as well as the parameters for ruminal epithelium development. Crude glycerin can be used as an alternative energy source replacing corn up to 10% in the starter concentrate for milk-feeding dairy calves without affecting growth, development or animal metabolism.

Keywords: Byproduct; Coproducts; Glucose; Growth; Rumen development; Ruminal papillae

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fórmula estrutural do glicerol	26
Figura 2 – Representação esquemática da reação bioquímica de transesterificação	28
Figura 3 – Consumo de concentrado (g/dia) de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial.....	51
Figura 4 – Ganho de peso diário (g/dia) de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial.....	52
Figura 5 – Peso vivo (kg) de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial	53
Figura 6 – Medidas em centímetros, da altura na cernelha (1), perímetro torácico (2) e largura da garupa (3), de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial	56
Figura 7 – Escore de condição das fezes de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial.....	58
Figura 8 – Medidas do pH do fluido ruminal de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial.....	60
Figura 9 – Concentração molar de AGCC total no fluido ruminal de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial	62
Figura 10 – Concentração molar de ácido acético no fluido ruminal de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial	63
Figura 11 – Concentração molar de ácido propiônico no fluido ruminal de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial	65
Figura 12 – Concentração molar de ácido butírico no fluido ruminal de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial	66
Figura 13 – Valores da relação acetato / propionato de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial	67
Figura 14 – Concentrações plasmáticas de glicose de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial	69

- Figura 15 – Concentrações plasmáticas de BHBA de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial..... 71
- Figura 16 – Concentrações plasmáticas de proteína total de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial..... 73
- Figura 17 – Concentrações plasmáticas de lactato de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial..... 74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Grau de pureza da glicerina de acordo com sua composição química ..	27
Tabela 2 – Características da fermentação ruminal 4 horas após a administração de 1 kg de glicerina bruta (80% de glicerol) por diferentes vias para vacas leiteiras	31
Tabela 3 – Composição do concentrado experimental (% MS)	40
Tabela 4 – Composição químico-bromatológica dos concentrados experimentais, do sucedâneo e da glicerina bruta	41
Tabela 5 – Consumo de concentrado (g/dia), ganho de peso diário (g/dia) e peso vivo (kg) de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial	49
Tabela 6 – Altura na cernelha, perímetro torácico e largura da garupa de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial	55
Tabela 7 – Perfil de fermentação ruminal de bezerros recebendo 0, 5 e 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial	59
Tabela 8 – Concentração plasmática de glicose, lactato, β -Hidroxibutirato e proteína total em bezerros recebendo 0, 5 e 10% de glicerina bruta como substituto para o milho no concentrado inicial	68
Tabela 9 – Medidas morfométricas do trato digestório superior de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial.....	75
Tabela 10 – Medidas de desenvolvimento do epitélio ruminal de bezerros recebendo 0, 5 e 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial.....	76

1 INTRODUÇÃO

Com produção estimada em 2010 de 30,7 bilhões de litros de leite (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2010), o Brasil encontra-se entre os cinco países com maior produção de leite no mundo, colocando a pecuária leiteira brasileira em um cenário de destaque na economia do país. Diante disso, sistemas mais econômicos e eficientes de criação de animais, com adoção de práticas de manejo e alimentação adequadas, garantem a reposição e o aumento do rebanho nacional com animais de grande potencial produtivo e a baixos custos.

No entanto, a fase de cria representa um período de vida do animal onde os produtores tem pouco retorno financeiro. Levando assim, ao longo do tempo, ao desenvolvimento e adoção de técnicas que possibilitem a redução no custo com alimentação sem que ocorram reduções no desempenho dos animais. Dentre essas técnicas, podemos destacar o sistema de desaleitamento precoce, uso de substitutos do leite e utilização de alimentos alternativos na formulação das dietas líquidas e sólidas para estes animais, bem como práticas de manejo sanitário. Entretanto, segundo Quigley (1996b), para que o desaleitamento ocorra com sucesso, o bezerro deve apresentar o rúmen parcialmente desenvolvido, capaz de digerir alimento sólido e assim manter ganho de peso satisfatório. Nesse sentido, o fornecimento de dieta líquida e sólida de qualidade e que atenda as exigências nutricionais nesta fase, assume grande importância.

A alimentação representa um dos principais componentes do custo de produção de animais em crescimento, podendo variar de 50 a 70% dos custos totais. As fontes de carboidratos mais utilizadas na formulação de concentrados iniciais no Brasil são milho, sorgo, farelo de trigo, aveia e melaço. O milho é a fonte de carboidrato preferível na formulação destes concentrados por apresentar amido de maior digestibilidade para os animais em aleitamento, quando comparado à maioria dos ingredientes energéticos utilizados. Contudo, por ser um ingrediente utilizado em dieta de vários outros animais de produção, principalmente animais monogástricos, apresenta altos preços no mercado em comparação a ingredientes alternativos como os coprodutos de indústrias.

Atualmente a crescente demanda por combustíveis renováveis tem levado ao interesse no cultivo e processamento de oleaginosas para produção de

biocombustíveis. Com isso, ocorreu o aumento na sua produção, havendo assim maior oferta de coprodutos, principalmente de glicerina bruta.

Segundo a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – ANP, em 2009, a produção de biodiesel no Brasil foi de aproximadamente 1,6 bilhões de litros, com a geração de 160 milhões de litros de glicerina bruta como subproduto. A produção de glicerina bruta excedente no mercado poderá chegar a 325 mil toneladas/ano em 2012. Sendo assim, o destino da glicerina bruta é uma importante consideração a ser feita pela agroindústria do biodiesel, pois além de ser um poluente ambiental, esta não atende os requisitos legais para uso farmacêutico, que preconiza o uso da glicerina purificada com teores acima de 99,5% de glicerol (Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, 2012; GONÇALVES, 2006).

A glicerina purificada foi muito estudada como suplemento gliconeogênico para prevenção de distúrbios metabólicos (Cetose) em vacas durante a fase de lactação (FISHER et al., 2004; SAUER et al., 1973; JOHNSON et al., 1954) e ovelhas durante o pré-parto (GRIFFITHS, 1952), pois aumenta o suprimento de precursores da glicose. Entretanto, em consequência do crescimento da indústria do biodiesel, o interesse pelo uso da glicerina tem sido renovado, pois há possibilidade de incluí-la como macroingrediente na dieta de ruminantes, já que apresenta um preço favorável em relação aos principais cereais utilizados na dieta. Segundo Mach et al. (2009) a glicerina bruta poderia ser incluída em dietas de ruminantes como um ingrediente energético e substituir outros ingredientes utilizados na alimentação, como o milho.

A inclusão de coprodutos da indústria de biocombustíveis na formulação de concentrados iniciais em substituição ao milho, sem que ocorram prejuízos ao desempenho animal ou alterações negativas no metabolismo, pode ser interessante. No entanto, ao contrário da pesquisa com ruminantes adultos (BODARSKY et al., 2005; DEFRAIN et al., 2004; LINKE et al., 2004; WANG et al., 2009), a avaliação deste coproduto na nutrição de animais lactentes foi pouco estudada.

Diante disso, com o aumento na produção de biodiesel e a disponibilidade de grandes quantidades de glicerina bruta no mercado, este pode ser um novo ingrediente para substituição do milho no concentrado inicial de bezerros, assim como tem sido para ruminantes adultos.

Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da substituição de milho por glicerina bruta no concentrado inicial, sobre o desempenho e alterações no metabolismo energético de bezerros leiteiros em aleitamento convencional.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Biodiesel e glicerina bruta

A crise energética mundial, juntamente com a preocupação em reduzir a poluição ambiental, tem conduzido à comunidade internacional para o uso de tecnologias voltadas à produção de energias renováveis. O biodiesel pode ser considerado como um produto energético limpo e sustentável por ser originado de produtos de origem animal e vegetal (ANP, 2012). Sendo assim, os biocombustíveis aparecem como uma oportunidade promissora para diversos países, sobretudo para aqueles que possuem vocação e tradição agrícola, como o Brasil.

Segundo a ANP (2012) em conformidade com a Lei nº 11.097 de 13 de janeiro de 2005, o biodiesel pode ser definido como um combustível renovável e biodegradável, composto de alquil ésteres de ácidos graxos de cadeia longa, derivado de óleos vegetais ou de gorduras animais.

Sua produção resulta de processo de transesterificação dos óleos vegetais ou gorduras animais, gerando em média 10% de glicerina como um dos subprodutos do processo industrial (PINTO et al., 2005). De acordo com a ANP (2012), por existir um grande complexo de produção de soja no país, esta representa em média 70% da matéria prima para a produção de biodiesel, sendo os 30% restantes feitos a partir de outras fontes vegetais como o girassol e mamona, ou de gorduras animais.

Desde 1º de janeiro de 2010, o óleo diesel comercializado em todo o Brasil contém 5% de biodiesel. Esta regra foi estabelecida em conformidade com a resolução nº 6/2009 do Conselho Nacional de Política Energética (CNPE), publicada no Diário Oficial da União (DOU) em 26 de outubro de 2009, que aumentou de 4% para 5% o percentual obrigatório de mistura de biodiesel ao óleo diesel. Nos anos de 2007, 2008 e 2009 foram produzidos respectivamente, 0,40, 1,17 e 1,61 bilhões de m³ de biodiesel. Isto significa que a produção no ano de 2009 foi de 402,5% a mais que no ano de 2007, o que representou um aumento na produção de aproximadamente 120 milhões de toneladas de glicerina bruta. Conforme dados da ANP (2012), a produção de biodiesel em 2011 foi de aproximadamente 2,7 bilhões de m³, com isso o excedente de glicerina bruta no mercado poderá chegar a 325 mil toneladas/ano, trazendo desta forma uma preocupação a respeito do seu

destino. No entanto, a glicerina possui propriedades umectantes, alto conteúdo de energia e alta solubilidade em água, o que a coloca com grande potencial para o uso como fonte de energia para a alimentação animal.

Contudo, embora a glicerina bruta possa ser uma fonte de energia alternativa para a alimentação animal, existem questões em aberto sobre o tratamento, as taxas de inclusão, impacto e nível de contaminantes que devem ser pesquisadas.

2.2 Caracterização e obtenção da glicerina

Denominada de glicerol quando em estado puro (Figura 1) ou ainda 1, 2, 3 propanotriol, a glicerina é um composto orgânico pertencente à função álcool com três hidroxilas do grupo dos polióis, em que a fórmula molecular é $C_3H_8O_3$ (IUPAC, 1993). Dentre as características físico-químicas da glicerina, destacam-se as propriedades de ser líquida em temperatura ambiente (25°C), higroscópica, inodora, viscosa e de sabor adocicado. O nome origina-se da palavra grega *glykos*, que significa doce (McGRAW-HILL, 2005).

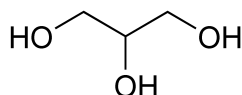


Figura 1 – Fórmula estrutural do glicerol

A glicerina bruta é amplamente utilizada como matéria prima em diversos ramos da indústria, como a fabricação de remédios, cosméticos, pasta de dentes, espumas, resinas sintéticas e borrachas de ésteres, além da indústria de alimentos que consome grandes quantidades de glicerol. De acordo com o FDA (*Food and Drugs Administration*), órgão norte-americano de regulamentação dos alimentos, o glicerol se enquadra no status GRAS (*Generally Recognized as Safe*), se caracterizando como um alimento geralmente reconhecido como seguro e sendo utilizado como aditivo alimentar segundo as boas normas de fabricação e alimentação. Entretanto, seu uso na alimentação animal é permitido desde que o resíduo de metanol não ultrapasse 150 mg/kg de glicerina bruta (CODE OF FEDERAL REGULATIONS, 2004). No Brasil, seu uso em produtos alimentícios é

assegurado pela Resolução de nº 386, de 5 de Agosto de 1999 (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 1999). Contudo, segundo as normas estabelecidas pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA, através da instrução normativa nº 08 de 2004, o aproveitamento de glicerina oriunda de gordura animal como alimento para ruminantes está vetado por problemas associados à Encefalopatia Espongiforme Bovina.

De acordo com Schröder e Südekum (1999), a glicerina pode ser classificada em função do grau de pureza: baixa (50 a 70% de glicerol), média (80 a 90% de glicerol) e alta pureza (acima de 99% de glicerol); sendo que as principais fontes de variação ocorrem pela presença de água, glicerol, fósforo, sódio, potássio e metanol (Tabela 1).

Tabela 1 – Grau de pureza da glicerina de acordo com sua composição química

	Pureza da Glicerina		
	Baixa	Média	Alta
Água, %	26,80	2,50	1,10
	% da matéria seca		
Glicerol	63,30	85,30	99,80
Extrato etéreo	0,71	0,44	...
P	1,05	2,36	...
K	2,20	2,33	...
Na	0,11	0,09	...
Metanol	26,7	0,04	...

¹Não analisado.

Adaptado: Schröder e Südekum (1999).

Nota: Sinal convencional utilizado:

... Dado numérico não disponível.

Biologicamente, o glicerol é importante por ser um dos precursores dos triglicerídeos, quando combinado aos ácidos graxos tais como o ácido esteárico, oleico, palmítico e láurico, sendo uma forma de lipídeos especializada no armazenamento de energia (NELSON; COX, 2011). Glicerol é também um dos precursores dos fosfolipídios que são os principais constituintes das membranas biológicas das células e organelas.

Coproduto oriundo de diversas rotas industriais, a glicerina bruta utilizada na alimentação animal é obtida principalmente pelo processo de transformação de

triglicerídeos em biodiesel a partir de lipídeos derivados de óleos vegetais ou gordura animal. Esta transformação ocorre através de uma reação de transesterificação (Figura 2), onde os triglicerídeos reagem com o metanol ou etanol (álcool) na presença de hidróxido de sódio ou potássio (catalisador), gerando como produtos da reação, biodiesel (metil ésteres) e glicerina (HENN; ZANIN, 2009; PARENTE, 2003).

De acordo com Darsari et al. (2005) e Gonçalves (2006), ao final da reação de transesterificação, para cada 90 m³ de biodiesel produzidos, são gerados em média 10 m³ de glicerina bruta. A glicerina recuperada alcança concentrações superiores a 50% de glicerol com quantidades variáveis de água, sais e álcool (RIVALDI et al., 2008). Geralmente por terem um custo menor e apresentar melhor rendimento industrial, nas plantas de produção de biodiesel no Brasil, o álcool utilizado é o metanol, assim como o catalisador mais utilizado é o hidróxido de sódio (PARENTE, 2003).

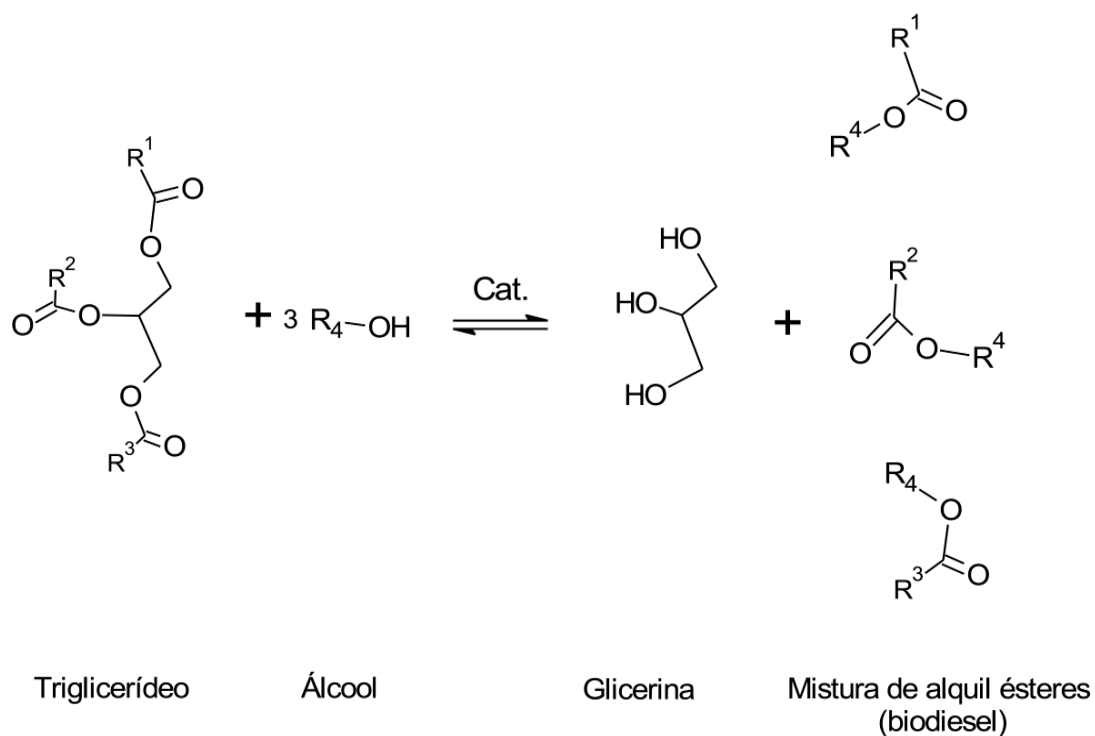


Figura 2 – Representação esquemática da reação bioquímica de transesterificação

As glicerinas de média e baixa pureza predominam no mercado nacional, sendo que ambas podem ser aproveitadas na alimentação animal como ingrediente energético das rações, uma vez que seu conteúdo energético pode variar de 3-6

Mcal EB / kg, dependendo da sua composição (BRAMBILLA; HILL, 1966; KERR et al., 2009; LAMMERS et al., 2008). Diante disso, o uso de glicerina bruta como ingrediente energético na nutrição animal representa um importante destino do excedente de glicerina produzida a partir de biodiesel no país.

2.3 Metabolismo do glicerol

O glicerol tem seu efeito gliconeogênico reconhecido em seres humanos, camundongos e mamíferos em geral, ocorrendo principalmente no fígado, embora outros órgãos, como os rins e cérebro também sejam capazes de realizar este processo (LINN, 1977). Em ruminantes, o glicerol tem sido avaliado como um precursor gliconeogênico e utilizado no tratamento de cetose de vacas leiteiras durante o período de transição desde a década de 1950 (JOHNSON, 1954). Mais recentemente, foi também avaliado como um macro ingrediente na dieta de ruminantes (BODARSKY et al., 2005; DEFRAIN et al., 2004; FAVARO et al., 2010; GOFF; HORST 2001; MACIEL et al., 2012; MACH et al., 2009; SHROEDER; SÜDEKUM, 1999).

Bioquimicamente, o glicerol é uma pequena molécula que desempenha papel vital no metabolismo animal. Atua como precursor do glicerol-3 fosfato, um metabólito primordial para o fornecimento de carbono para a gliconeogênese; levando equivalentes redutores do citosol para a mitocôndria para que ocorra a fosforilação oxidativa; e também servindo como estrutura básica dos triacilgliceróis (LIN, 1997).

No fígado e tecido adiposo, o glicerol é precursor para a síntese de triacilgliceróis e de fosfolipídios (BRISSON et al., 2001; LIN, 1977; TAO et al., 1983). Quando o organismo utiliza a gordura acumulada como fonte de energia no tecido adiposo, glicerol e ácidos graxos são libertados na corrente sanguínea. O glicerol pode ser convertido em glicose pelo fígado, disponibilizando energia para o metabolismo celular. Antes que possa entrar na via da glicólise ou da gliconeogênese (dependendo das condições fisiológicas), deve ser convertido em gliceraldeído-3 fosfato pela enzima glicerol quinase presente apenas no fígado.

No tecido adiposo, o glicerol 3-fosfato é obtido da dihidroxiacetona fosfato por meio da ação da enzima glicerol-3-fosfato desidrogenase. O glicerol liberado no catabolismo do triacilglicerol é convertido em glicose no fígado por meio de

fosforilação em glicerol-3-fosfato catalisada pela enzima glicerol quinase iniciando então a gliconeogênese (LIN, 1977; NELSON; COX, 2008).

A glicerina bruta oriunda da indústria de biodiesel possui grande potencial para substituir o amido na dieta de ruminantes, pois segundo estudo realizado por Johns (1953), o glicerol é rapidamente convertido em propionato no rúmen e este age como um precursor para a síntese de glicose hepática. Contudo, ainda são escassas as informações sobre as implicações metabólicas da suplementação exógena em grandes proporções de glicerol como um ingrediente energético das rações (MENTEN et al., 2008). Diante disso, estudo como de Remond et al. (1993) utilizando animais ruminantes, mostrou que o glicerol apresenta alta fermentação ruminal, sendo convertido a ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e absorvido através da parede do rúmen. Dentre os principais ácidos graxos produzidos, se destacam o propionato e butirato (CZERKAWSKI; BRECKENRIDGE, 1972; FERRARO et al., 2009).

Bergner et al. (1995) utilizando glicerina marcada com carbono 14 avaliaram a transformação de glicerina pelos microrganismos do rúmen em ensaios *in vitro*. Os autores observaram que a maioria de glicerina foi convertida em propionato e uma pequena parte em CO₂ (11%), enquanto que nenhuma quantidade de glicerina marcada foi convertida em acetato. Já Trabue et al. (2007) verificaram que houve diminuição da produção de acetato, analisando o fluido ruminal de vacas leiteiras alimentadas com dieta composta por 50% de concentrado contendo glicerol.

O glicerol é fermentado por bactérias anaeróbicas facultativas, mas bactérias estritamente anaeróbicas como *Selenomonas ruminantium*, produtoras de propionato, são as mais importantes (HOBSON; MANN, 1961). Entretanto, estudos mostram que o glicerol deprime a atividade de alguns microrganismos celulolíticos ruminais, diminuindo a aderência e atividade da celulase de bactérias (*Ruminococcus flavefaciens* e *succinogenes Fibrobacter*), mas afetando principalmente fungos celulolíticos. É importante salientar que a colonização fúngica é um passo importante para a digestão da fibra. *Neocallimastix frontalis*, um fungo ruminal com atividade celulolítica, parece ser afetado pela presença de glicerol na dieta (FAVERIN, 2004; PAGGI; FAY; ROGER et al., 1992) Sendo assim, a variação dos produtos finais do metabolismo ruminal do glicerol, sugerem que os produtos finais da sua fermentação, dependem do tipo de microflora presente no rúmen e sua interação com a glicerina.

De acordo com Krehbiel (2008), cerca de 44% do glicerol que chega ao rúmen desaparece por fermentação, 43% é absorvido pela parede ruminal e apenas 13% escapa para do abomaso em animais adultos. O glicerol absorvido é normalmente assumido como sendo um substrato gliconeogênico em animais ruminantes. A absorção do glicerol pelo epitélio ruminal ocorre através das proteínas integrais de membrana, mais especificamente pelas aquagliceroporinas, especializadas em transportar o glicerol (FROGER et al., 2001).

O tipo de dieta, a quantidade suplementada e o método de administração, podem determinar a quantidade de glicerol que escapa da fermentação ruminal, a que é absorvida pela parede ruminal, assim como a proporção molar dos AGCC produzidos (DEFRAIN et al., 2004; KIJORA et al., 1998).

Em estudo fornecendo 1 kg de glicerina bruta (80% de pureza e coproduto do biodiesel) para vacas leiteiras, Linke et al. (2004), observaram reduções nas concentrações molares de acetato e aumento nas concentrações molares de propionato e butirato, 4 horas após o fornecimento via alimentação, *drench* e tubo esofágico (Tabela 2).

Tabela 2 – Características da fermentação ruminal 4 horas após a administração de 1 kg de glicerina bruta (80% de glicerol) por diferentes vias para vacas leiteiras

AGCC	Tratamentos				P ¹
	Controle	Alimentação	Drench	Tubo	
Acetato, mol %	53,3	44,9	44,6	43,0	0,05
Propionato, mol %	26,4	28,7	30,4	30,4	0,05
Butirato, mol %	14,1	20,0	20,3	21,5	0,05

¹Valor de P

Adaptado: Linke et al. (2004)

De acordo com Donkin (2008), a glicerina é quase totalmente fermentada a AGCC no rúmen, principalmente a propionato. O mesmo autor relata que vacas alimentadas com glicerina, necessitam de um período de adaptação pra que os microrganismos ruminais também se adaptem a glicerina na dieta. Além disso, a extensão da sua digestão depende da taxa de inclusão de glicerina na dieta.

DeFrain et al. (2004) avaliaram a inclusão de 0,43 kg/dia e 0,86 kg/dia de glicerina bruta na dieta de vacas no período de pré-parto e pós-parto, e encontraram aumentos na produção de AGCC total e butirato ruminal, mas menor

relação acetato/propionato. Boyd et al. (2009), quando suplementaram vacas em lactação com 0,4 kg/dia de glicerina bruta, encontraram aumentos na produção de propionato ruminal e diminuição na produção de acetato. Da mesma forma, Abughazaleh et al. (2008) encontraram aumentos na relação propionato e acetato na avaliação de dietas contendo até 45% de glicerina bruta na matéria seca.

Diante disso, pode-se concluir que o tipo de dieta, a quantidade suplementada e o método de administração, podem determinar a quantidade de glicerol que escapa da fermentação ruminal, a que é absorvida pela parede ruminal, assim como a quantidade e proporção molar dos AGCC produzidos (KIJORA et al., 1998; LINKE et al., 2004; DEFRAIN et al., 2004).

2.4 Desenvolvimento ruminal e metabolismo de bezerros lactentes

O desenvolvimento da capacidade absorptiva e de secreção do trato gastrointestinal é essencial para o processo digestivo de bezerros jovens e melhor aproveitamento dos alimentos. Por outro lado, embora a secreção de fluídos e enzimas seja importante, estas não ocorrem de forma sincronizada. Em bezerros recém-nascidos, a atividade das principais carboidrases (amilase, maltase e isomaltase) é extremamente baixa no intestino, exceto a lactase. Dessa forma, durante as primeiras semanas, os ruminantes têm uma capacidade limitada em digerir alimentos diferentes da lactose do leite. Toullec e Guilloteau (1989) observaram baixa produção das enzimas amilase pancreática e maltase em bezerros com até três semanas de vida, explicando a capacidade limitada de digestão de dissacarídeos e polissacarídeos durante esta fase da vida. Entretanto, estes autores observaram aumento na atividade destas enzimas com o avanço da idade dos animais, com conseqüente declínio na produção de lactase durante o mesmo período.

Animais pré-ruminantes devem consumir fontes de glicose e ácidos graxos como principais fontes de energia durante o período neonatal. Sendo assim, no início da vida dos animais, a lactose presente na dieta líquida é uma das principais fontes de energia para os bezerros. No entanto, conforme a quantidade de lactose do leite deixa de atender as demandas por glicose destes animais em crescimento, a glicogenólise e a gliconeogênese ganham importância no metabolismo energético de bezerros (HAMMON; BLUM, 1998).

Do nascimento até a segunda semana de vida, os bezerros apresentam características digestivas similares a animais monogástricos, com o abomaso e o intestino representando os principais órgãos responsáveis pela digestão. Em animais recém-nascidos, o retículo e o rúmen encontram-se pouco desenvolvido, com o abomaso representando 60% da capacidade do total dos compartimentos, o retículo juntamente com o rúmen apenas 30% e o omaso 10%. À medida que o animal cresce, os compartimentos digestivos se desenvolvem e na quarta semana de vida, o retículo/rúmen passam a representar 58%, o abomaso 30% e o omaso 12% (CHURCH, 1988; WARNER; FLATT; LOOSLI, 1956;). Por volta da décima segunda semana, o animal apresenta as proporções dos compartimentos semelhantes a de um ruminante adulto, com o retículo/rúmen possuindo $2/3$ da capacidade total do trato digestório superior (DAVIS; DRACKLEY, 1998).

Com o desenvolvimento do rúmen, o metabolismo de carboidratos é alterado de forma marcante. Os animais absorvem quantidades bastante reduzidas de glicose no intestino delgado, enquanto uma grande quantidade de AGCC é absorvida do trato digestório superior (HAGA et al., 2008).

De acordo com estudos realizados por Beharka et al. (1998), bezerros recém-nascidos passam por uma série de mudanças anatômicas e fisiológicas no aparelho digestório até chegarem à condição de ruminante funcional. Neste processo, o desenvolvimento das papilas ruminais, estruturas importantes para a absorção dos produtos finais resultantes da fermentação microbiana, sofrem grande influencia do tipo de dieta oferecida.

Diversos trabalhos têm mostrado que o desenvolvimento de papilas é dependente principalmente da presença de alimentos sólidos no rúmen e da consequente produção de AGCC resultantes da fermentação (MURDOCK; WALLENIUS, 1980; QUIGLEY et al., 1996a; TAMATE et al., 1962). Dessa forma, o adequado desenvolvimento das papilas ruminais é resultado do estímulo físico causado pelo alimento consumido, aliado ao estímulo químico com a produção de AGCC no rúmen. Dentre os AGCC, o ácido butírico é responsável pelo crescimento em número e tamanho de papilas, seguido pelo ácido propiônico, tendo o ácido acético pouca importância. A maior produção desses ácidos graxos ocorre com a fermentação de alimentos concentrados, com alto teor de proteína e carboidrato. Dessa forma, a disponibilidade de concentrado para o animal desde a primeira semana de vida é indispensável (ANDERSON et al., 1987; COVERDALE et al.,

2004; LESMEISTER; HEINRICHS, 2004; SANDER et al., 1959; TAMATE et al., 1962).

Inicialmente, o rúmen do bezerro tem pouca importância como órgão digestório. Nas primeiras semanas de vida, o abomaso e o intestino são os principais órgãos digestório e a glicose e a proteína da dieta sua fonte energética e proteica, respectivamente. Conforme o animal encontra-se na fase de transição de pré-ruminante/ruminante funcional, o rúmen começa a participar como órgão digestório, produzindo através da fermentação, AGCC e proteína microbiana que, juntamente com a glicose e a proteína da dieta compõem as fontes de energia e proteína para o animal. Por fim, quando o animal tem o rúmen completamente desenvolvido, este passa a ser o principal órgão digestório, sendo que os AGCC e a pouca glicose produzida no intestino são as fontes energéticas; enquanto que a fonte proteica é composta pela proteína microbiana e pela proteína dietética não degradável no rúmen, além da proteína endógena.

Diante disso, estratégias de formulação de dietas sólidas para obtenção de maiores concentrações de ácido butírico e propiônico, parecem promissoras no sentido de garantir o desenvolvimento ruminal precoce, possibilitando assim o desaleitamento sem prejuízos ao desempenho animal.

2.5 Glicerina bruta na alimentação de bovinos jovens

Em bezerros lactentes, é de fundamental importância que os animais aumentem o consumo de alimentos sólidos, principalmente concentrado inicial, com o avanço da idade. Dessa forma, suas exigências de manutenção e ganho são atendidas, e os animais se tornam aptos a consumirem dietas sólidas em quantidades e qualidades adequadas após o desaleitamento. Em contrapartida, o uso de glicerina na dieta de animais lactentes podem ocasionar problemas fermentativos e redução no consumo de concentrado, o que pode não ser interessante para essa categoria animal. Contudo, como o valor energético da glicerina assemelha-se ao do milho da dieta desses animais e a fermentação ruminal da glicerina tende a aumentar a produção de propionato e butirato (TRABUE et al., 2007), precursores importantes para o desenvolvimento ruminal de bezerros em aleitamento (ANDERSON et al., 1987; BEHARKA et al., 1998; QUIGLEY et al.,

1996a; TAMATE et al., 1962), o menor consumo pode ser contornado pelo maior desenvolvimento ruminal, resultando em maior ganho de peso e eficiência alimentar.

Com intuito de investigar a inclusão de glicerina na dieta de bezerros, Ebert e Drackley (2008) avaliaram a substituição parcial de lactose por glicerol puro no sucedâneo para bezerros leiteiros. Os autores forneceram substituto de leite com a mesma composição, exceto pela adição de 15% de glicerol substituindo parte da lactose em um dos tratamentos. De acordo com os resultados, não houve diferenças entre os tratamentos, com os animais apresentando ganhos de peso semelhantes ao longo de todo o período experimental, independente da inclusão de glicerol. Também não foram verificadas diferenças significativas nas medidas corporais (altura na cernelha, perímetro torácico e comprimento do corpo) e medidas de saúde (escore fecal e tratamentos médicos). Com base nestes resultados, os autores sugerem que o glicerol pode substituir de maneira aceitável pelo menos 37,5% do total de lactose na fórmula do substituto do leite.

Já Golombeski et al. (2009), avaliaram a inclusão de glicerina no concentrado inicial. Os autores conduziram um estudo com 90 bezerras holandesas recebendo concentrado com 19% de proteína bruta e 0, 3 ou 6% de glicerina bruta em substituição ao milho, por um período de 112 dias após o desaleitamento. Baseado nos resultados, não houve diferenças entre o consumo diário de concentrado e ganho diário de peso dos animais, demonstrando que a substituição de milho por até 6% de glicerina foi adequada para bezerros no período pós-desmama.

No entanto, em um experimento com maior inclusão de glicerina, 0, 6, 12 ou 18% de glicerina bruta (85% de glicerol) na dieta de 132 novilhas de corte por 102 dias. Ilse e Anderson (2009) observaram redução linear no consumo de matéria seca. Contudo, não foram detectadas diferenças significativas entre os tratamentos sobre o ganho de peso, e os animais recebendo glicerina tiveram maior eficiência alimentar. Da mesma forma, Gunn et al. (2011) avaliaram a substituição do milho da dieta por 0, 15 e 30% de glicerina bruta combinada com grãos secos solúveis de destilaria (DDGS) sobre o desempenho, parâmetros metabólicos e qualidade de carcaça de bezerros de corte recém desmamados. Os autores encontraram ganhos de peso diários de 1,39, 1,33 e 1,07 kg/dia para os grupos alimentados com 0, 15 e 30% de glicerina, respectivamente ($P < 0,01$) e consumo de MS em 7,01, 6,06 e 5,05 kg/dia, respectivamente. Os dados demonstram que níveis excessivos de glicerina

na dieta (acima de 15%) afetaram negativamente o ganho de peso dos animais, principalmente por reduzirem o consumo de MS. Entretanto, a eficiência alimentar não foi afetada pelos altos níveis de inclusão de glicerina. Os pesquisadores relataram também que a inclusão de glicerina não afetou as características de carcaça e os parâmetros metabólicos avaliados, concluindo que a substituição do milho por até 15% de glicerina bruta, parece ser o melhor nível de substituição.

Neste contexto, Maciel et al. (2012) avaliaram a inclusão de 0, 8, 16 ou 24% de glicerina bruta na dieta de 28 bezerros mestiços holandês/zebu abatidos aos 60 dias de idade, sobre as características de carcaça e desempenho. Os autores observaram que a inclusão de glicerina bruta no concentrado inicial até o nível de 24% não afetou o ganho de peso diário, as características da carcaça, bem como seus respectivos rendimentos, podendo ser utilizada na alimentação de bezerros leiteiros destinados à produção de animais jovens.

Favaro e Ezequiel et al. (2010), avaliaram cinco novilhos fistulados no rúmen, alimentados com dietas que continham cinco taxas de inclusão de glicerina (0; 5, 10, 15 e 20% da MS). As dietas com glicerina apresentaram menores concentrações de extrato etéreo e carboidratos não fibrosos, o que levou a uma redução linear no consumo desses nutrientes com o aumento do percentual de glicerina na dieta. Os autores observaram que os valores de pH ruminal não foram influenciados pela inclusão de glicerina. Entre 2 e 4h após a alimentação o pH apresentou valores abaixo de 6,2, considerado ideal para a fermentação da fração fibrosa. Entretanto, houve diferenças para a concentração de amônia ruminal 1 e 2h após a alimentação, onde observaram tendência de diminuição da concentração de N-NH₃ com o aumento da concentração de glicerina na dieta.

Chilibroste et al. (2011) avaliaram a ingestão de MS e ganho de peso de bezerros holandês com idade média de 6,6 meses alimentados com silagem de sorgo, suplementados com glicerina bruta (10g/kg PV) como fonte energética em comparação com suplementação a base milho (10g/kg PV). Os pesquisadores encontraram ganhos similares para suplementação com milho (0,518 kg/dia) e glicerina bruta (0,571 kg/dia), não havendo diferenças sobre o consumo de matéria seca para os dois tipos de suplementação. Concluindo dessa forma, que suplementos a base de milho ou glicerina podem ser usados para alimentar bezerros com eficiência semelhante.

Schröder e Südekum (1999) avaliaram os efeitos do glicerol sobre a fermentação ruminal, em um experimento utilizando quatro novilhos fistulados no rúmen, alimentados com glicerina em substituição ao amido da dieta. Os autores observaram que o glicerol não afetou a digestibilidade da dieta, mas diminuiu a relação acetato/propionato e aumentou as concentrações de butirato ruminal. Segundo estes pesquisadores, estas alterações seriam benéficas, pois o aumento de propionato no rúmen aumentaria o fornecimento do substrato para a gluconeogênese hepática; e o aumento do butirato ruminal suportaria o crescimento do tecido epitelial ruminal, o que poderia induzir a uma melhoria na absorção de nutrientes pelo rúmen.

Diante do exposto, a glicerina bruta surge como um ingrediente promissor para o uso em dietas de bezerros, visto que o propionato e butirato se destacam como os principais metabólitos produzidos através da fermentação ruminal (FERRARO et al., 2009; TRABUE et al., 2007) e seu uso na dieta parece não afetar significativamente o desempenho dos animais. Todavia, ainda são poucos os trabalhos conduzidos no sentido de avaliar os efeitos de glicerina bruta no concentrado inicial de animais lactentes sobre o desempenho, desenvolvimento do trato digestório e metabolismo energético.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais, instalações e manejo alimentar

O Experimento foi realizado no bezerreiro experimental da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ, da Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, durante o período de janeiro a julho de 2011.

Foram utilizados vinte e quatro bezerros machos da raça Holandês em um experimento em blocos completos casualizados (definidos por idade e peso ao nascimento), com três tratamentos e oito repetições (blocos) por tratamento.

Os animais foram adquiridos de fazenda comercial da região com idade entre 1 e 5 dias de vida, sendo transportados em caminhão exclusivo pra transporte de animais. Após o nascimento, os animais foram colostrados de acordo com as recomendações de literatura, separados da mãe e alojados em abrigos individuais. Após o período de colostragem, os animais passaram a receber 4 litros de dieta líquida que compreendeu de sucedâneo lácteo e/ou leite transição, de acordo com a disponibilidade na propriedade. Após o transporte para o bezerreiro experimental, os animais foram também alojados em abrigos individuais e passaram a receber 4 L/d de sucedâneo lácteo (Servalmilk PRO, Serval Nutrição Animal, São Paulo, SP, Brasil), divididos em duas refeições (7 e 17h), e tiveram livre acesso à água e ao concentrado inicial.

Os animais foram distribuídos em um dos seguintes tratamentos, de acordo com a inclusão de glicerina (%MS) em substituição ao milho no concentrado inicial: 1) 0% Glicerina bruta; 2) 5% Glicerina bruta; 3) 10% Glicerina bruta.

O concentrado inicial foi formulado segundo o NRC (2001) para serem isoprotéicos e isoenergéticos, com mínimo de 18% de proteína bruta (PB) e 80% de nutrientes digestíveis totais (NDT) (Tabela 3 e 4). O concentrado inicial foi fornecido toda tarde, ad libitum, pesando-se a sobra do dia anterior, de forma a se obter o consumo diário de concentrado. O desaleitamento dos animais foi realizado de acordo com a idade, de forma abrupta, na oitava semana de vida, quando se encerrou o período experimental.

Tabela 3 – Composição do concentrado experimental (% MS)

Ingredientes, %	Tratamentos ¹		
	0%	5%	10%
Milho moído	60,0	55,0	50,0
Glicerina bruta	0,0	5,0	10,0
Melaço de Cana	2,0	0,0	0,0
Farelo de soja	28,0	29,0	29,0
Premix mineral/vitamínico ²	2,0	2,0	2,0
Casca de Soja	6,5	7,5	7,5
Farelo de trigo	1,5	1,5	1,5

¹ 0% = controle sem glicerina, 5% = substituição de 5% de glicerina, 10% = substituição de 10% glicerina

² Composição do Premix mineral/vitamínico: Ca, 22,0%; P, 5,5%; S, 2,2%; Na, 7,0%; Cl, 10,55%; Mg, 3,5%; Co, 50,0 ppm; Cu, 450,0 ppm; I, 40,0 ppm; Fe, 500,0 ppm; Mn, 1.500,0 ppm; Se, 20,0 ppm; Zn, 1.550,0 ppm; Vit. A, 90.000 UI/kg; Vit. E, 1.000 UI/kg; Vit. D, 75.000 UI/kg.

3.2 Análises químico-bromatológicas

As características físico-químicas da glicerina bruta utilizada no presente trabalho foram fornecidas pela empresa e são apresentadas na Tabela 4. A glicerina foi originada de óleos vegetais (óleo de soja), obtida pela rota metílica, sendo adquirida na empresa ADM: Brasil - LTDA, na usina situada Rondonópolis, MT, Brasil.

Amostras do sucedâneo e do concentrado fornecido foram colhidas periodicamente para determinação da composição químico-bromatológica (Tabela 4). As amostras foram moídas a 1mm em moinho do tipo Wiley para determinação de matéria seca (MS) à 105° C, matéria mineral (MM) e extrato etéreo (EE) de acordo com Campos, Nussio e Nussio (2002); proteína bruta (PB) através de combustão, conforme método de Dumas, utilizando-se o analisador de nitrogênio LECO, modelo FP-528 (LECO Corporation, St. Joseph, MI, EUA); fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina pelo método descrito por Van Soest, Robertson e Lewis (1991); nitrogênio insolúvel em FDN (N-FDN) e nitrogênio insolúvel em FDA (N-FDA) pelo método descrito Licitra, Hernandez e Van Soest (1996). Os valores de nutrientes digestíveis totais (NDT) foram calculados de acordo com as equações propostas por Weiss (1993) e os teores de carboidratos não fibrosos (CNF) foram estimados através da equação (1):

$$(1) \quad \text{CNF (\%MS)} = 100 - (\text{PB} + \text{EE} + \text{FDNLP} + \text{MM})$$

Onde,

PB, EE, FDN livre de proteína(LP) e MM são expressos em % da MS

Tabela 4 – Composição químico-bromatológica dos concentrados experimentais, do sucedâneo e da glicerina bruta

	Concentrados Experimentais			Sucedâneo ¹
	0%	5%	10%	
Matéria Seca, %	87,85	87,81	84,39	86,86
Matéria Mineral, % MS	4,79	4,96	5,27	11,09
Proteína Bruta, % MS	20,72	21,33	21,07	22,57
Extrato Etéreo, % MS	3,87	3,38	3,19	19,34
FDN, % MS	18,00	18,15	17,80	0,66
FDA, % MS	8,07	8,87	8,57	0,00
N-FDN, % N total	16,07	16,36	15,58	...
N-FDA, % N total	5,87	5,02	5,02	...
Lignina, % MS	0,72	0,59	0,68	...
Carboidratos não fibrosos, % MS	52,62	52,18	52,67	...
Nutrientes digestíveis totais (NDT)	82,61	82,09	81,40	...
Energia bruta, Kcal/Kg	3873,34	3881,29	3852,16	4507,42
Energia metabolizável, Mcal/Kg ²	3,08	3,06	3,04	...
Características da glicerina bruta³				
Aspecto	Líquido viscoso			
Glicerol, %	80,70			
Cloreto de sódio, %	5,81			
Ácidos graxos, %	0,22			
Metanol, ppm	80,00			
Umidade, %	12,60			
Energia bruta, kcal/kg	3522,69			

¹ Servalmilk PRO, Serval Nutrição Animal, São Paulo, SP, Brasil

² Valor estimado pelo NRC (2001)

³ ADM: Brasil - LTDA, Rondonópolis, MT, Brasil

Nota: Sinal convencional utilizado:

... Dado numérico não disponível.

3.3 Avaliação do desempenho e desenvolvimento corporal

Os animais foram pesados ao nascer e semanalmente, sempre antes do fornecimento do leite da manhã, em balança mecânica (ICS-300, Coimma Ltda., Dracena, SP, Brasil), até a oitava semana de vida. Semanalmente foram mensuradas a altura na cernelha e largura da garupa, utilizando-se régua com escala em centímetros; e perímetro torácico com fita flexível, também com escala em centímetros.

3.4 Escore fecal e sanidade

Diariamente foram realizadas avaliações das fezes de acordo com sua coloração, consistência e aspecto geral conforme proposto por Larson et al. (1977). As fezes foram classificadas como (1) quando normais e firmes; (2) quando com consistência pastosa, porém com aspecto geral saudável; (3) quando com consistência líquida; (4) quando com consistência aquosa, coloração cinza, presença de bolhas, espuma ou grande quantidade de partículas de grãos; (5) quando com consistência aquosa, presença de sangue ou coloração esbranquiçada. Além disso, todos os eventos relativos à saúde dos animais como ocorrência de pneumonia ou tristeza bovina parasitária, além da diarreia, foram anotados, registrando-se o período de sua duração e da aplicação de medicamentos.

3.5 Colheita de fluido ruminal e metodologia analítica

3.5.1 Colheita de fluido ruminal e determinação do pH

Na quarta, sexta e oitava semana de vida dos animais, foram realizadas colheitas de amostras de fluido ruminal com o auxílio de sonda e bomba de vácuo (Figura 5), duas horas após a alimentação da manhã. As amostras colhidas (aproximadamente 50 mL) foram filtradas em pano de fralda, sendo a determinação de pH realizada imediatamente após a amostragem, através de potenciômetro digital (DMPH-2, DIGIMED). A amostra foi então mantida em gelo até seu armazenamento em freezer a -10°C , para posterior determinação das concentrações de ácidos graxos de cadeia curta.

3.5.2 Determinação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC)

As amostras foram descongeladas e centrifugadas a 15.000 x g a 4°C por 60 minutos para obtenção do sobrenadante. As amostras foram analisadas em cromatógrafo líquido-gasoso (Hewlett Packard 5890 Series II GC), equipado com integrador (Hewlett Packard 3396 Series II Integrator) e injetor automático (Hewlett Packard 6890 Series Injector), conforme descrito por Campos, Nussio e Nussio (2002). O padrão interno utilizado foi o ácido 2-metilbutírico sendo acrescentado, em cada tubo para leitura no cromatógrafo, um volume de 100µl do padrão interno, 800µl da amostra e 200µl de ácido fórmico. Uma mistura de ácidos graxos de cadeia curta com concentração conhecida foi utilizada como padrão externo para a calibração do equipamento.

3.6 Colheita de sangue e metodologia analítica

3.6.1 Colheita de sangue

Amostras de sangue foram colhidas a partir da segunda semana de vida, através de punção da jugular, utilizando-se tubos vacuolizados contendo fluoreto de sódio como antiglicolítico e EDTA de potássio como anticoagulante (VACUETTE do Brasil, Campinas, SP, Brasil). As colheitas de sangue foram realizadas semanalmente, sempre duas horas após o aleitamento da manhã e as amostras acondicionadas em isopor com gelo para seu transporte ao laboratório e imediato processamento. As amostras foram centrifugadas a 2000 x g, durante 20 minutos, à temperatura de 4°C. O plasma foi armazenado em tubetes plásticos e mantido em freezer para posterior determinação de glicose, proteínas totais, lactato e β-hidroxibutirato (BHBA), realizadas no Laboratório de Metabolismo Animal do Depto. de Zootecnia da ESALQ/USP.

3.6.2 Determinação de glicose plasmática

As concentrações de glicose foram determinadas utilizando-se o kit enzimático GLICOSE HK LIQUIFORM – Ref.: 85 (LABTEST Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG, Brasil) por espectrofotometria de ponto final, utilizando-se filtro de

absorbância de 505 nm em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA-200 (CELM, Barueri, SP, Brasil). Uma alíquota de 4 µL da amostra foi pipetada em cubetas de reação, acrescida de 400 µL de reagente fornecido pelo kit. Após período de incubação de 10 minutos, foi realizada a leitura da absorbância para obtenção dos valores de glicose em mg/dL. Para calibração do equipamento, solução padrão fornecida com o kit enzimático com concentração de 100 mg/dL de glicose foi analisada a cada rodada.

3.6.3 Determinação de lactato plasmático

As concentrações de lactato foram determinadas utilizando-se o kit enzimático LACTATO LIQUIFORM – Ref.: 116 (LABTEST Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG, Brasil), por espectrofotometria de ponto final, utilizando-se filtro de absorbância de 550 nm em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA-200 (CELM, Barueri, SP, Brasil). Foi utilizado para calibração do equipamento solução padrão fornecida com o kit com concentração de 40 mg/dL. Uma alíquota de 5 µL de amostra foi pipetada na cubeta de reação, acrescida de 400 µL de reagente enzimático, incubada por 7 minutos em 25°C, para posterior leitura.

3.6.4 Determinação de proteínas totais no plasma

As concentrações de proteínas totais foram determinadas utilizando-se kit enzimático PROTEÍNAS TOTAIS – Ref.: 99-250 (LABTEST Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG, Brasil) por espectrofotometria de ponto final, utilizando-se filtro de absorbância de 540 nm em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA-200 (CELM, Barueri, SP, Brasil). O método utiliza 1000 µL de reagente de biureto pipetado em 200 µL de amostra ou solução padrão (4g/dL) incubados a 37°C por 10 minutos. Após o período de incubação, as reações das amostras com o reagente formaram um composto de cor púrpura, cuja absorbância é proporcional à concentração de proteínas da amostra.

3.6.5 Determinação de β-hidroxibutirato no plasma

A determinação de BHBA foi realizada utilizando-se kit enzimático RANBUT – Ref.: RB1007 (RANDOX Laboratories - Life Sciences Ltd., Crumlin, UK), utilizando-se filtro de absorvância de 340 nm em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA-200 (CELM, Barueri, SP, Brasil). Foi utilizada para calibração do equipamento uma solução padrão fornecida com o kit com concentração de 1,000 mmol/L. Uma alíquota de 12,5 µL de amostra foi pipetada na cubeta de reação, acrescida de 500 µL de reagente enzimático, seguida por leitura no aparelho após 60 segundos para obtenção da absorvância inicial. Após incubação por mais 120 segundos, foi realizada uma nova leitura da amostra. A diferença entre as leituras inicial e final foi utilizada para obtenção dos resultados, considerando-se os valores obtidos com a solução padrão.

3.7 Avaliação morfométrica do trato digestório superior e desenvolvimento ruminal

3.7.1 Avaliação morfométrica do trato digestório superior

Ao completar 8 semanas de vida, os animais foram pesados e em seguida abatidos por meio de atordoamento e sangria, com o corte da jugular. Os animais tiveram sua cavidade abdominal aberta, sendo os quatro compartimentos retirados livres de tecido adiposo omental. O conteúdo do trato digestório superior foi retirado com auxílio de lavagens com água, sendo os compartimentos divididos em retículo-rúmen, omaso e abomaso. A capacidade máxima do retículo-rúmen foi determinada com auxílio de amarrações na saída deste compartimento, sendo este cheio com água até sua máxima capacidade e o volume medido em proveta. Depois da retirada do excesso de água dos tecidos, foram registrados os pesos do retículo-rúmen, do omaso, do abomaso e dos quatro compartimentos em conjunto.

3.7.2 Avaliação do desenvolvimento ruminal

Amostras do saco ventral do rúmen foram retiradas com auxílio de bisturi, preservadas em solução de formaldeído 10% e posteriormente avaliadas quanto à altura e largura de papilas, além de número de papilas por cm², através de microscópio estereoscópico provido de escala. Foram avaliadas três amostras por

animal, sendo mensuradas pelo menos 10 papilas de cada amostra para a determinação de altura e largura médias, conforme proposto por Leismeister, Tozer e Heinrichs (2004).

3.8 Análise estatística

O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, sendo os animais alocados nos blocos de acordo com a data de nascimento e peso ao nascer. Os dados dos parâmetros de consumo de concentrado, ganho de peso diário e medidas corporais (altura na cernelha, perímetro torácico, largura da garupa), foram analisados como medidas repetidas no tempo (semana) com auxílio do procedimento MIXED do pacote estatístico SAS (version 9.0, SAS Institute Inc., Cary, NC), conforme modelo (2). Os dados de parâmetros ruminais (pH, N-amoniaco e ácidos graxos de cadeia curta) assim como os parâmetros sanguíneos (glicose, proteínas totais, lactato e β -hidroxibutirato) também foram analisados como medidas repetidas no tempo a partir do PROC MIXED do pacote SAS (version 9.0, SAS Institute Inc., Cary, NC), levando-se em conta o efeito de semana. Já as medidas morfológicas do trato digestório superior, assim como as medidas relativas ao desenvolvimento do rúmen (papilas) foram analisadas através do PROC GLM do programa estatístico SAS (version 9.0, SAS Institute Inc., Cary, NC), conforme modelo (3). Para efeito de comparação de médias foi utilizado o teste t de Student, sendo as médias estimadas através do método dos quadrados mínimos (LSMEANS), com nível de significância de 5%.

$$(2) \quad Y_{ijk} = \mu + T_i + I_j + T_{ij} + B_k + E_{ijk}$$

Onde,

Y_{ijk} = variável resposta;

μ = média geral;

T_i = efeito do tratamento (controle, 5% ou 10% de glicerina bruta);

I_j = efeito da idade dos animais (semana);

T_{ij} = efeito da interação tratamento e idade do animal (semana)

B_k = efeito do bloco;

E_{ijk} = efeito devido ao acaso (resíduo).

$$(3) \quad Y_{ijk} = \mu + T_i + B_k + E_{ik}$$

Onde,

Y_{ijk} = variável resposta;

μ = média geral;

T_i = efeito do tratamento (controle, 5% ou 10% de glicerina bruta);

B_k = efeito do bloco;

E_{ik} = efeito devido ao acaso (resíduo).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Consumo e desempenho

Como pode ser observado na Tabela 5, não foram encontradas diferenças significativas no consumo de concentrado em resposta a inclusão de glicerina bruta em substituição ao milho moído ($P>0,05$), assim como não houve diferenças para o efeito de interação tratamento x idade ($P>0,05$).

Tabela 5 – Consumo de concentrado (g/dia), ganho de peso diário (g/dia) e peso vivo (kg) de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

	Tratamentos			EPM ¹	P< ²		
	0%	5%	10%		T	I	T x I
Consumo de concentrado, g/d							
Ao desaleitamento	1523,6	1459,3	1499,5	133,52	0,79
Média do período total	754,9	688,4	641,1	118,50	0,69	<,0001	0,71
Ganho de peso diário, g/d							
Média do período total	563,23	501,24	473,96	49,26	0,30	<,0001	0,34
Peso vivo, kg							
Inicial	38,2	37,5	37,2	2,77	1,00
Final	63,8	60,2	59,8	2,77	0,99
Média do período total	48,4	46,5	45,8	2,67	0,44	<,0001	0,29

¹ EPM = erro padrão da média

²T = efeito do tratamento; I = efeito da idade dos animais; T x I = efeito da interação tratamento e idade dos animais

Nota: Sinal convencional utilizado:

.. Não se aplica dado numérico.

Esperava-se que as médias de consumo de concentrado dos tratamentos contendo glicerina fossem inferiores ao consumo do tratamento controle, uma vez que diversos trabalhos tem encontrado esse efeito da glicerina sobre o consumo de MS (ILSE; ANDERSON, 2009; GUNN et al., 2011). Entretanto, os resultados mostram que a glicerina não afetou o consumo de concentrado, o que possivelmente, pode estar relacionado ao nível de substituição adotado e pela qualidade da glicerina utilizada neste estudo. Como esperado e relatado por

diversos autores (KERTZ, 1979; WILLIAMS; FROST, 1992), observou-se grande variação nos dados de consumo de concentrado inicial, sendo observado valor de erro padrão da média de 118,5 g/d. De maneira geral, os animais apresentaram consumo de concentrado bastante adequado para animais em sistema de aleitamento com vistas ao desaleitamento precoce. Além disso, os dados do consumo de concentrado durante o período de aleitamento foram semelhantes aos apresentados por Quigley et al. (1996a) e superior aos encontrados por Raeth-Knight et al. (2009) que avaliaram a glicerina na dieta de bezerros em aleitamento.

Como pode ser observado na Figura 3, o consumo de concentrado aumentou ($P < 0,01$) com o avanço da idade do animal, fator importante para que o desaleitamento possa ser realizado de maneira satisfatória. Além disso, o consumo de concentrado alcançou valores para desaleitamento conforme sugerido por Quigley et al. (1996b). De acordo com esses autores, para que o desaleitamento possa ser realizado de forma adequada e sem afetar o desempenho animal, bezerros da raça Holandês, devem apresentar consumo entre 700-800 g de matéria seca de concentrado inicial, durante três dias consecutivos. Outro aspecto importante a ser considerado é a alta relação do consumo de concentrado inicial por ocasião do desaleitamento de bezerros leiteiros com o potencial de produção de leite futura (HEINRICHS; HEINRICHS, 2011). Neste sentido, os resultados observados neste estudo estão acima da média esperada para bezerros leiteiros com a mesma idade, conforme revisão apresentada por Davis e Drackley (1998).

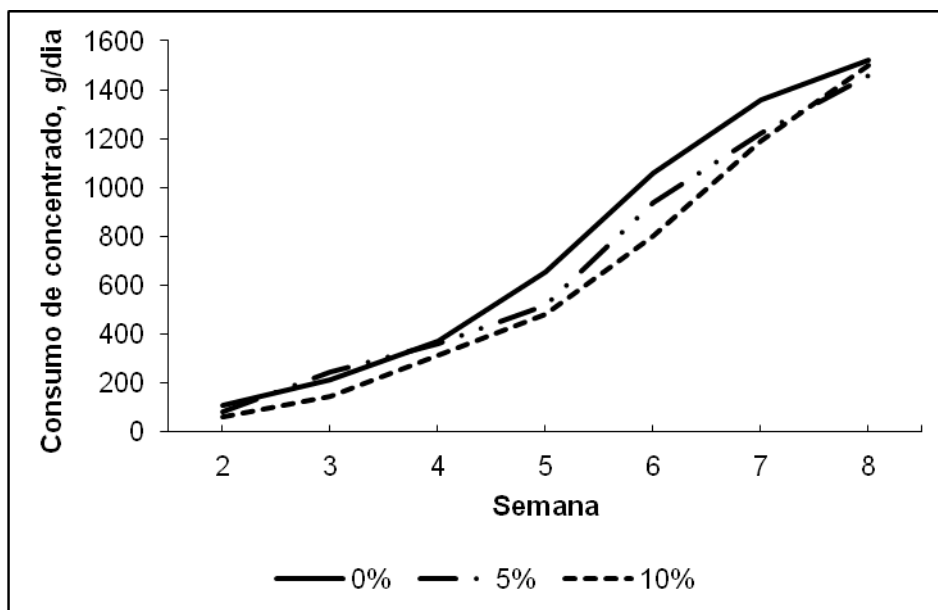


Figura 3 – Consumo de concentrado (g/dia) de acordo com a idade de bezerras recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

Trabalhos avaliando os efeitos da substituição de milho por glicerol em dietas para animais em crescimento estão disponíveis na literatura em sua maioria com animais de corte, apresentando resultados bastante variados e dependentes da formulação da dieta. Parsons et al. (2009), por exemplo, observaram redução linear no consumo de matéria seca em animais alimentados com rações contendo de 0 a 16% de glicerina bruta em substituição ao milho. Da mesma forma, Gunn et al. (2011), avaliando níveis maiores de substituição do milho da dieta de bezerras de corte recém desaleitados, 0, 15 e 30% de glicerina bruta combinada com grãos secos solúveis de destilaria (DDGS), observaram redução linear no consumo de matéria seca, sugerindo que a substituição do milho por até 15% de glicerina bruta, parece ser a melhor opção.

Por outro lado, Mach et al. (2009) não observaram efeitos no consumo de matéria seca em dietas com alto teor de concentrado contendo 0, 4, 8 ou 12% de glicerina bruta. Schroder e Sudekum (1999) utilizaram dietas contendo 10% de glicerol e não verificaram diferença no consumo de MS para vacas leiteiras. De acordo com a revisão de Donkin (2008) a inclusão de glicerina bruta na ração em substituição ao milho em níveis de até 15% não altera o consumo de matéria seca de vacas em lactação. Segundo Drouillard (2008), a glicerina bruta tem reduzido o consumo de matéria seca quando incluída em níveis superiores a 10%, mas

aumentado o ganho de peso diário, melhorando consequentemente a eficiência em 16 a 23% quando comparada a dietas sem inclusão de glicerina.

A semelhança entre tratamentos observada no consumo de concentrado, também foi verificada nos valores de ganho de peso diário e de peso vivo final (Tabela 5), não havendo diferenças entre os tratamentos ($P>0,05$). Estes dois parâmetros apresentaram efeito de idade ($P<0,001$), com valores sempre crescentes, conforme pode ser observado nas Figuras 4 e 5. As taxas de crescimento animal apresentam-se de acordo com o observado na literatura para animais em aleitamento (HEINRICHS; LOSINGER, 1998; HOFFMAN, 1997; KERTZ; CHESTER-JONES, 2004), fator relacionado principalmente ao consumo de concentrado, o que garante ganhos diários satisfatórios também após o desaleitamento. Contudo, o valor de peso vivo final não atingiu a recomendação de se dobrar o peso ao nascer de bezerros leiteiros durante a fase de aleitamento (VAN AMBURGH; DRACKLEY, 2005). Isto porque, em sistemas de aleitamento convencional onde se fornece 4L/d de dieta líquida aos animais, a meta de dobrar o peso ao nascer ao desaleitamento é dificilmente atendida tendo em vista que esta quantidade fornecida atende pouco mais que a exigência de manutenção do animal.

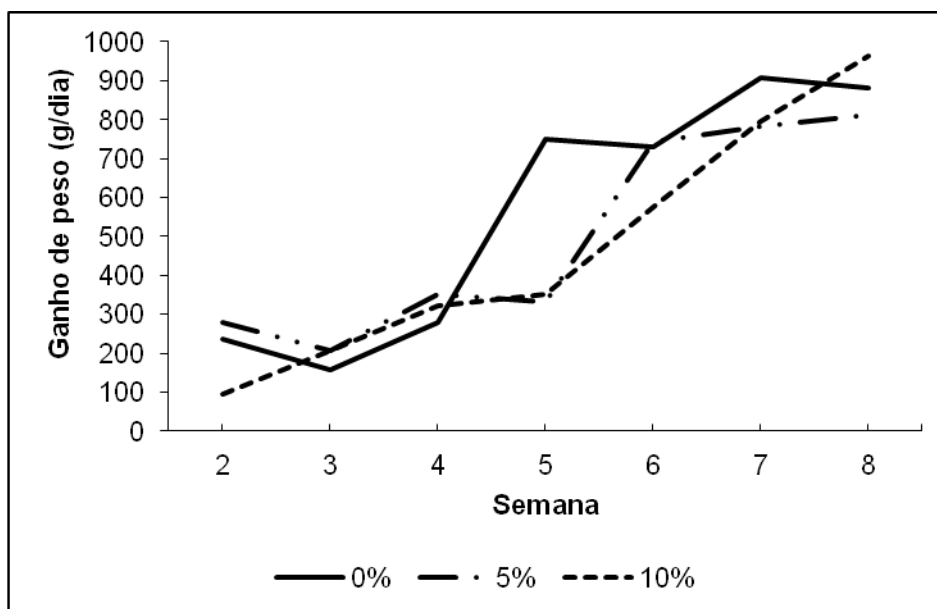


Figura 4 – Ganho de peso diário (g/dia) de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

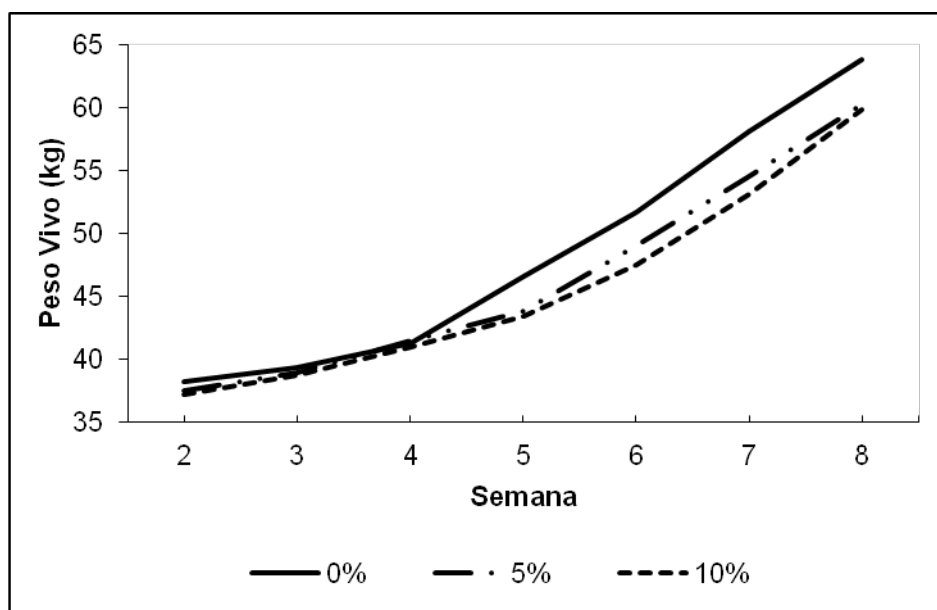


Figura 5 – Peso vivo (kg) de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

Os valores de ganho de peso diário médio de todo o período experimental estão acima do normalmente observado em experimentos nacionais e em sistemas de produção comerciais, onde se aplica manejo alimentar com vistas ao desaleitamento precoce (FERREIRA et al., 2010; NUSSIO et al., 2003; SILVA et al., 2011). Nestes sistemas os animais são aleitados com volumes restritos de dieta líquida, normalmente em torno de 4L/d, de forma a estimular o consumo de concentrado mais cedo, o que permite o desaleitamento tendo em vista o desenvolvimento ruminal.

Em alguns trabalhos conduzidos com a adição de glicerina na dieta de bezerros em aleitamento, assim como ocorrido no presente estudo, não foram observados efeitos negativos no desempenho animal, seja com a adição na dieta líquida ou sólida. Ebert e Drackley (2008) forneceram substituto de leite com a mesma composição do utilizado neste estudo, exceto a adição de 15% de glicerol substituindo parte da lactose em um dos tratamentos para bezerros, os quais apresentaram ganhos de peso semelhantes ao longo de todo o período experimental. Também não foram verificadas diferenças significativas nas medidas corporais e em medidas de saúde. Com base nestes resultados, os autores sugerem que o glicerol pode substituir de maneira aceitável pelo menos 37,5% do total de lactose na fórmula do substituto de leite, tornando-se economicamente favorável.

Raeth-Knight et al. (2009) também avaliaram a substituição de lactose por glicerol em substituto de leite e não observaram redução no ganho de peso ou no desenvolvimento corporal quando esta substituição foi por até 35% de glicerol na MS ou 46% em relação ao teor de lactose do tratamento controle.

Alguns trabalhos também avaliaram a substituição de milho por glicerina bruta no concentrado para bezerros. Golombeski et al. (2009) forneceram concentrado com 0, 3 ou 6% de glicerina bruta para bezerros após o desaleitamento e não observaram diferenças entre o consumo diário de concentrado e ganho diário de peso. De acordo com estes resultados, a substituição de milho por até 6% de glicerina foi adequada para bezerros no período pós-desmama. Maciel et al. (2012) avaliaram maiores níveis de inclusão (0, 8, 16 ou 24% de glicerina bruta) na dieta sobre o desempenho de 28 bezerros mestiços holandês/zebu e não observaram efeito negativo no ganho de peso diário, mesmo para o maior nível de inclusão.

Baseado nos resultados encontrados, a substituição do milho por até 10% de glicerina não afetou o consumo de concentrado, ganho de peso médio e peso vivo final, podendo assim ser incluída na dieta de bezerros com vista ao desaleitamento precoce, sem prejuízos ao desempenho animal.

As mensurações iniciais, finais e médias da altura na cernelha, perímetro torácico e largura na garupa (Tabela 6) não apresentaram diferenças entre os tratamentos ($P > 0,05$). No entanto, conforme esperado, foram observados efeitos significativos de idade do animal ($P < 0,001$) para estas medidas corporais, como pode ser observado através da Figura 6.

Tabela 6 – Altura na cernelha, perímetro torácico e largura da garupa de bezerras recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

	Tratamentos			EPM ¹	P < ²		
	0%	5%	10%		T	I	T x I
Altura na cernelha, cm							
Inicial	78,56	77,72	78,62	1,00	1,00
Final	85,14	83,66	84,32	1,08	0,99
Média do período total	81,30	80,24	81,06	1,02	0,60	<,0001	0,37
Ganho, cm/semana	0,98	0,85	0,81	0,05	0,80	<,0001	0,15
Perímetro torácico, cm							
Inicial	78,33	78,31	77,03	0,99	1,00
Final	92,33	90,31	89,60	0,99	0,97
Média do período total	84,10	83,56	82,54	0,86	0,43	<,0001	0,52
Ganho, cm/semana	2,00	1,71	1,80	0,03	0,39	<,0001	0,04
Largura da garupa, cm							
Inicial	21,61	21,00	21,41	0,37	0,99
Final	24,60	24,21	23,93	0,37	0,99
Média do período total	22,55	22,34	22,31	0,33	0,75	<,0001	0,14
Ganho, cm/semana	0,43	0,46	0,36	0,03	0,71	<,0001	0,18

¹Concentrado inicial com substituição do milho por 0, 5 e 10% de glicerina bruta

²EPM = erro padrão da média

³T = efeito do tratamento; I = efeito da idade dos animais; T x I = efeito da interação tratamento e idade dos animais

Nota: Sinal convencional utilizado:

.. Não se aplica dado numérico.

Os dados de altura na cernelha encontrados no presente trabalho corroboram os observados por Heinrichs e Hargrove (1987) em rebanhos comerciais dos Estados Unidos; e estão próximos dos recomendados pela literatura para bezerras em aleitamento, que sugere como ideais, ganhos semanais entre 1,3 – 1,4cm para animais com até 2 meses de idade (HOFFMAN, 1997). Os dados de altura inicial apresentam-se de acordo com os padrões para a idade e raça. Segundo estudos realizados por Heinrichs e Losinger (1998) os valores médios de altura inicial de bezerras da raça Holandês situam em torno de 79,4 cm, similares aos dos animais neste trabalho e pode ser observado na Figura 6 (1).

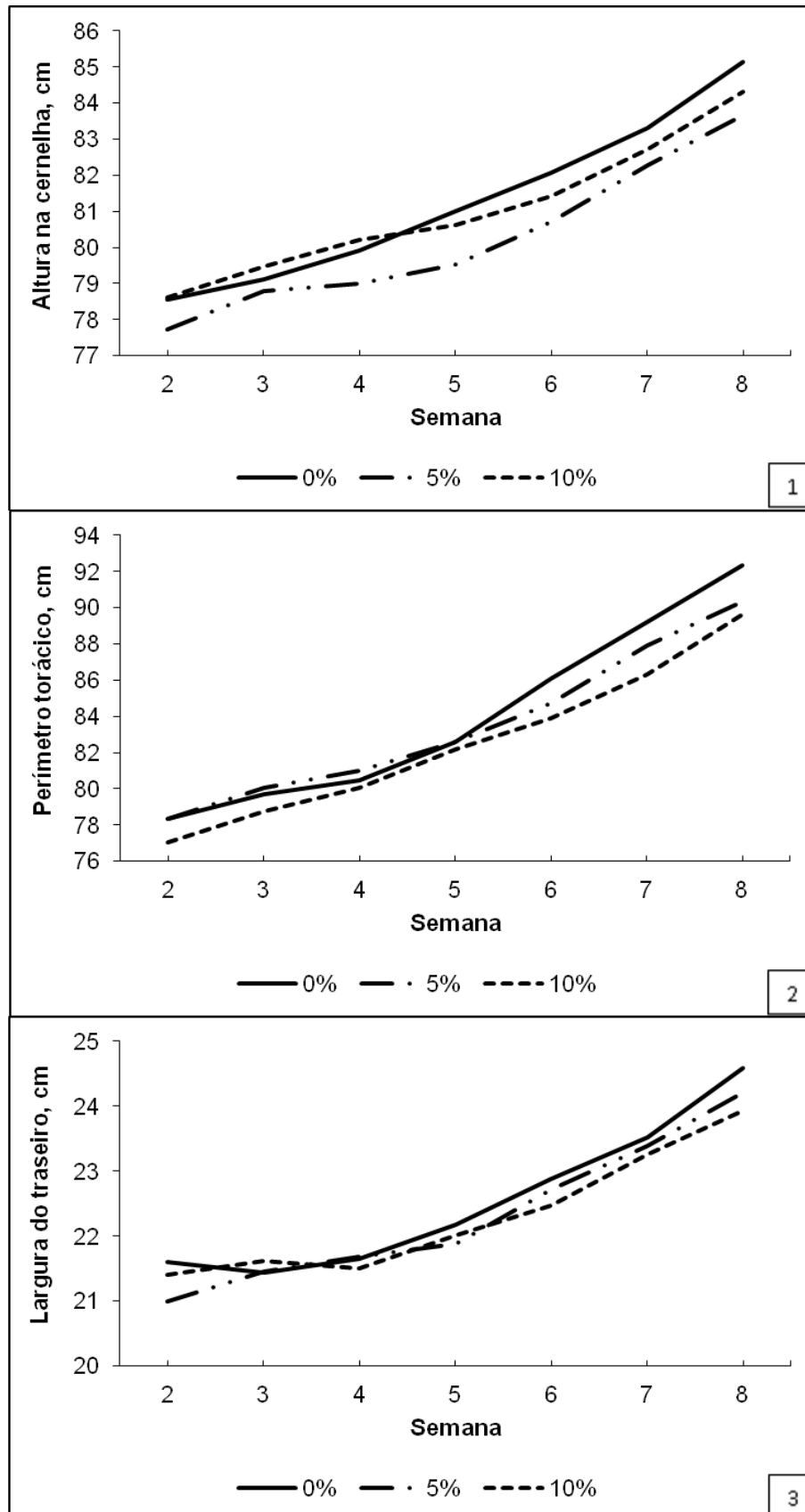


Figura 6 – Medidas em centímetros, da altura na cernelha (1), perímetro torácico (2) e largura da garupa (3), de acordo com a idade de bezerras recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

A inclusão de glicerina na dieta dos animais, independente da taxa de inclusão, não afetou as medidas morfométricas avaliadas, o que corrobora com os resultados encontrados por Ebert e Drackley (2008). Estes autores não encontraram diferenças significativas para as medidas de altura na cernelha, perímetro torácico e largura de garupa de bezerros recebendo glicerina bruta na dieta. Da mesma forma, Raeth-Knight et al. (2009), encontraram ganhos de estatura similares para animais recebendo ou não glicerina na dieta. Além disso, os dados de altura de cernelha e perímetro torácico foram semelhantes aos encontrados por Lesmeister e Heinrichs (2004) trabalhando com bezerros em aleitamento.

De acordo com Heinrichs et al. (2007) as principais medidas de desenvolvimento corporal apresentam grande correlação com o peso vivo dos animais. Dessa forma, é importante associar dados de crescimento corporal com os dados de ganho de peso para um melhor entendimento do crescimento do animal. Neste experimento os animais apresentaram sinergia entre ganho de peso e crescimento corporal adequados com o avanço da idade, demonstrando que a inclusão de glicerina na dieta não afetou as principais medidas corporais dos animais. Isso porque, como o consumo de concentrado independente do tratamento não foi afetado e os ganhos de peso foram satisfatórios, fica justificado o adequado crescimento corporal dos animais e a sinergia entre estes parâmetros.

4.2 Escore fecal

A distribuição dos dados de escore fecal com o avanço da idade dos animais para os tratamentos encontram-se na Figura 7. De acordo com os estudos realizados por Larson et al. (1977), considera-se o animal com diarreia quando seu escore fecal está acima do escore 2. No presente estudo não houve diferença entre os tratamentos e efeito de interação tratamento x idade ($P > 0,05$), no entanto, houve significância com o avanço da idade dos animais ($P < 0,0001$).

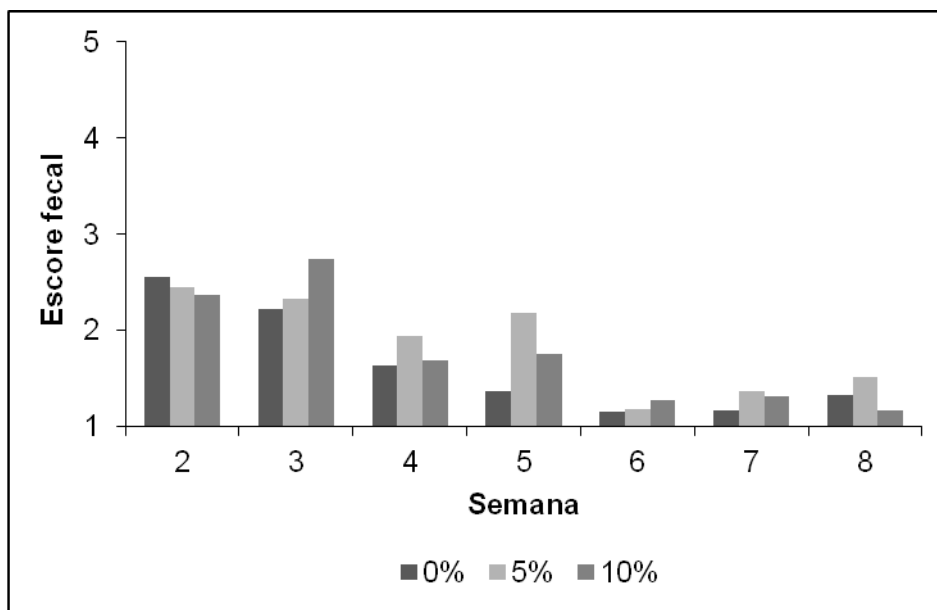


Figura 7 – Escore de condição das fezes de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

Conforme pode ser observado, durante a segunda e a terceira semanas de vida, observou-se a maioria dos casos de diarreia. Entretanto, os valores de escore fecal ficaram abaixo de 3, demonstrando que a ocorrência de diarreia nos animais não foi grave. Além disso, a maior parte dos dados de escore fecal observadas durante todo período experimental, estiveram abaixo de 2, comprovando o bom manejo sanitário durante o período experimental. A semelhança entre os tratamentos mostra que a glicerina não influenciou a ocorrência de diarreia nos animais. De acordo com a literatura, é comum ocorrer maior frequência de diarreia durante as duas ou três primeiras semanas de vida do animal (FRANKLIN et al., 2003; QUIGLEY et al., 1995), assim como foi observado neste experimento. Bezerros ao nascimento são frequentemente expostos a significativos estressores ambientais e imunológicos. Como o animal encontra-se em desenvolvimento, o sistema imunológico não está totalmente desenvolvido nesse período, o que os torna susceptíveis a agentes causadores de diarreia, principalmente vírus e bactérias.

Com a inclusão de glicerina bruta nas dietas, suspeitava-se que os tratamentos contendo a glicerina aumentassem a fluidez das fezes, devido ao seu alto teor de sódio (5,81% de cloreto de sódio), aumentando assim a incidência de diarreia alimentar nos animais. Porém, essa suspeita não se confirmou e os animais recebendo concentrado contendo glicerina apresentaram baixos escores fecais ao

longo de todo período experimental. Os dados encontrados neste experimento corroboram os resultados encontrados Raeth-Knight et al. (2009), que avaliando a inclusão de glicerina na dieta de bezerros, encontraram escore fecal com pontuações médias de 1,1 entre os tratamentos, indicando nenhum impacto da glicerina sobre a consistência das fezes. Da mesma forma, Ebert e Drackley (2008) também não encontram influência da glicerina sobre as medidas de saúde dos animais (escores fecais e tratamentos médicos).

4.3 Parâmetros ruminais

A Tabela 7 apresenta os parâmetros da fermentação ruminal referente às amostras de fluido ruminal colhidas na quarta, sexta e oitava semana de vida dos animais.

Tabela 7 – Perfil de fermentação ruminal de bezerros recebendo 0, 5 e 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

	Tratamento ¹			EPM ²	P< ³		
	0%	5%	10%		T	I	T x I
pH	5,25	5,11	5,10	0,08	0,303	0,016	0,225
Acético, mmol/L	64,93	52,15	52,76	4,98	0,142	0,623	0,256
Propiônico, mmol/L	46,95 ^a	36,03 ^b	44,28 ^a	3,11	0,057	<,0001	0,111
Butírico, mmol/L	7,29	6,62	6,85	0,52	0,650	0,216	0,100
AGCC total, mmol/L	130,46	107,86	115,29	7,58	0,115	0,130	0,580
Acetato : Propionato	1,39 ^a	1,19 ^b	1,20 ^b	0,05	0,021	<,0001	0,263

¹Concentrado inicial com substituição do milho por 0, 5 e 10% de glicerina bruta

²EPM = erro padrão da média

³T = efeito do tratamento; I = efeito da idade dos animais; T x I = efeito da interação tratamento e idade dos animais

^{a, b} Letras minúsculas na mesma linha diferem para P<0,05

Não houve diferença entre os tratamentos no pH médio do fluido ruminal (P>0,05), assim como não foi significativa à interação tratamento x idade (Tabela 7). Entretanto, foi significativa (P<0,05) a alteração do pH ruminal com valores decrescentes com o avanço da idade (Figura 8). O tratamento 5% de glicerina apresentou valores médios de pH abaixo de 5 por volta da sexta semana,

provavelmente em decorrência do aumento excessivo no consumo de concentrado por esses animais observado entre a quinta e sexta semana. A queda do pH ruminal com o avanço da idade dos animais encontrada neste experimento corrobora os resultados encontrados por Anderson et al. (1987); Beharka et al. (1991); Nussio et al. (2003b) e Lesmeister e Heinrichs (2004).

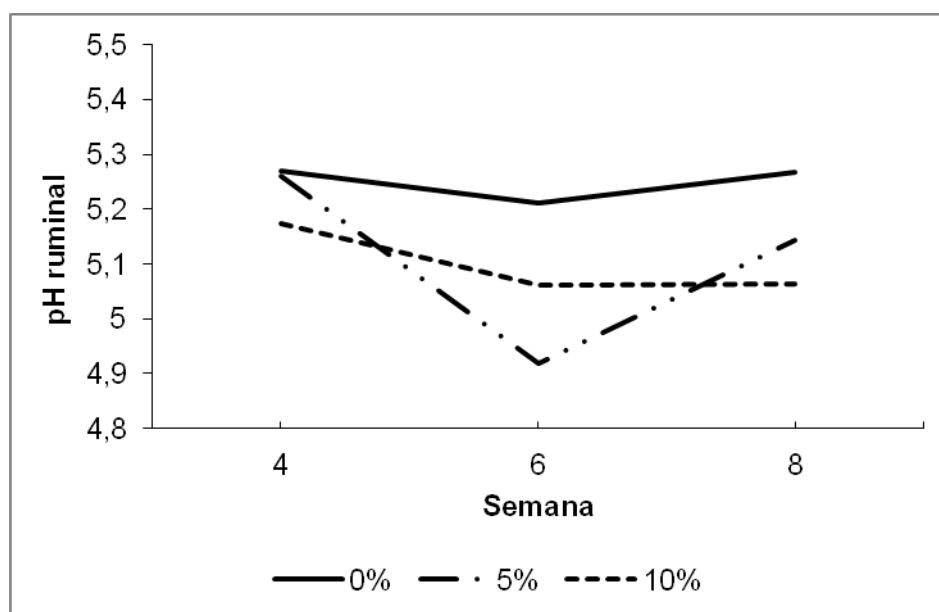


Figura 8 – Medidas do pH do fluido ruminal de acordo com a idade de bezerras recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

A queda no pH ruminal ocorre principalmente devido ao aumento no consumo de concentrado com o avanço da idade, além disso, o epitélio ruminal encontra-se em desenvolvimento e a microbiota não está plenamente estabelecida, predominando bactérias amilolíticas levando a queda do pH (VAZQUÉZ-ANON et al., 1993; BEHARKA et al., 1998). De acordo com Owens et al. (1988), o pH do líquido ruminal se situa na faixa de 5,5-6,5 para dietas ricas em concentrado e 6,2-7,0 para dietas compostas exclusivamente de forragem. Neste sentido, o aumento no consumo de concentrado verificado neste trabalho justifica a queda do pH ruminal observado ao longo do período experimental.

O pH do fluido ruminal de todos os tratamentos durante todo o período se mostrou baixo (Tabela 7). De acordo com Bernardes et al. (2007), a ruminação se mostra incipiente e há baixo fluxo de tamponantes salivares para o rúmen até por volta da sexta semana de idade, o que, associado ao alto consumo de concentrado

observado nas ultimas semanas de vida dos animais, pode justificar os baixos valores encontrados neste experimento.

Outra hipótese a ser considerada, é a alta fermentação e degradação ruminal da glicerina (TRABUE et al., 2007), justificando também os baixos valores de pH no fluido ruminal de bezerros que receberam concentrado contendo este ingrediente. Kijora et al. (1998), avaliaram novilhos cânulados alimentados com dieta baseada em grãos e encontraram redução do pH ruminal quando 200 g de glicerina bruta foram infundidas no interior do rúmen durante seis dias. Já Carvalho et al. (2011), não encontraram diferenças no pH ruminal de vacas no período de transição recebendo 11,5 e 10,8% de glicerina bruta na dieta de pré e pós parto, respectivamente. Da mesma forma, Defrain et al. (2004) não observaram diferenças significativas no pH ruminal de vacas em lactação recebendo glicerina bruta em substituição ao milho da dieta.

Como pode ser observado na Tabela 7 não houve efeito para tratamentos, idade (semana) ou interação tratamento x idade na concentração molar de AGCC total ($P > 0,05$). Entretanto, era esperado que houvesse aumento na concentração molar dos AGCC totais para os diferentes tratamentos e com o avanço da idade, já que ocorreu aumento significativo no consumo de concentrado pelos animais no presente estudo. É possível que a quantidade de glicerina adicionada na dieta tenha sido baixa e parte dos AGCC possam ter sido metabolizados na parede do rúmen, o que justificaria a ausência do aumento para os diferentes tratamentos avaliados.

Anderson et al. (1982) e Quigley et al. (1991) encontraram valores crescentes nas concentrações totais de AGCC com o avanço da idade de bezerros em aleitamento. Dados de literatura mostram que a glicerina bruta na dieta tende a aumentar a produção de AGCC total, uma vez que sua fermentação resulta no aumento da produção de propionato e butirato. DeFrain et al. (2004) e Trabue et al. (2007) relataram que animais suplementados com glicerol apresentaram maiores concentrações totais de AGCC no fluido ruminal.

De acordo com Bergman (1990), os AGCC são importantes fontes de energia para os animais ruminantes, podendo representar até 70% da energia exigida por esses animais. Aumentos na atividade metabólica do epitélio ruminal e na área absorptiva do rúmen de animais em crescimento são atribuídos ao aumento na concentração de AGCC resultantes da maior fermentação da matéria orgânica

(LESMEISTER; HEINRICHS, 2004). Dessa forma, a maior produção de AGCC com o avanço da idade funciona como indicador de desenvolvimento ruminal adequado. Nesse sentido, como pode ser evidenciado pela Figura 9, houve uma tendência de aumento na produção de AGCC com o avanço da idade dos animais ($P=0,13$). Além disso, os dados de produção de AGCC total encontram-se próximos ao recomendado pela literatura para animais com rúmen desenvolvido (120 mmol/L, VAZQUEZ-ANON et al., 1993; 150 mmol/L, ZITNAN et al., 1998).

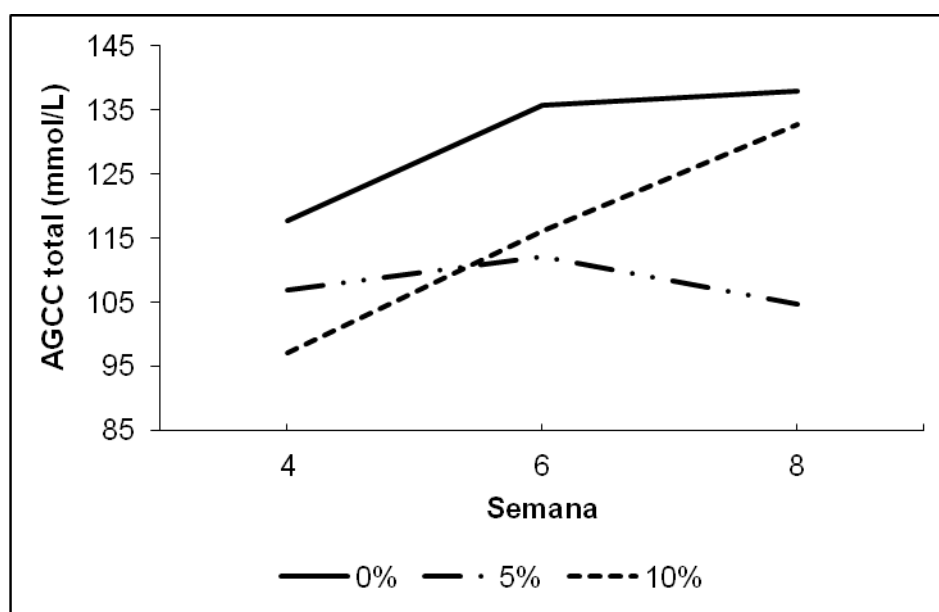


Figura 9 – Concentração molar de AGCC total no fluido ruminal de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

Como pode ser observado na Tabela 10, não foram encontrados efeitos significativos ($P>0,05$) para os diferentes tratamentos, idade (semana) e efeito da interação tratamento x idade sobre a concentração molar de ácido acético. Os dados encontrados neste estudo são similares aos encontrados por Suarez et al. (2007) que avaliaram bezerros em aleitamento recebendo dietas com alto teor de concentrado. A concentração deste ácido no fluido ruminal varia para alimentos volumosos e concentrados, sendo que dietas com alto teor de fibra tendem a produzir mais acetato enquanto que dietas ricas em concentrado tendem a diminuir sua concentração (OWENS et al., 1988). Coverdale et al. (2004) observaram tendência no aumento nas concentrações de ácido acético no fluido ruminal de bezerros recebendo dietas ricas em forragem. Entretanto, de acordo com um estudo

realizado por Krueger et al. (2009), a suplementação com glicerol superior a 20% pode afetar negativamente a digestão da fibra e alterar o perfil de AGCC ruminal. Como neste estudo o nível máximo de inclusão foi de 10%, essa pode ser a possível justificativa para não haver diferenças entre os tratamentos, entretanto houve uma tendência ($P=0,14$) de menor produção de acetato nos tratamentos com glicerina em relação ao tratamento controle.

O metabolismo ruminal da glicerina gera principalmente propionato em detrimento à produção de acetato (KIJORA et al., 1998). Além disso, a glicerina exerce um efeito depressor sobre a microbiota celulolítica presente no rúmen, o que afeta ainda mais a produção de acetato ruminal (ROGER et al., 1992). DeFrain et al. (2004) avaliaram a inclusão de glicerina bruta na dieta de vacas no período de transição e encontraram redução na produção de acetato. Da mesma forma, Wang et al. (2009) observaram redução na produção de acetato em novilhos cânulados recebendo a infusão de 100, 200 e 300 g/dia de glicerol no rúmen. Desse modo, essa pode ser a possível justificativa para a concentração de acetato encontrada neste estudo, ser numericamente inferior nas dietas contendo glicerina em relação à dieta controle ($P=0,14$).

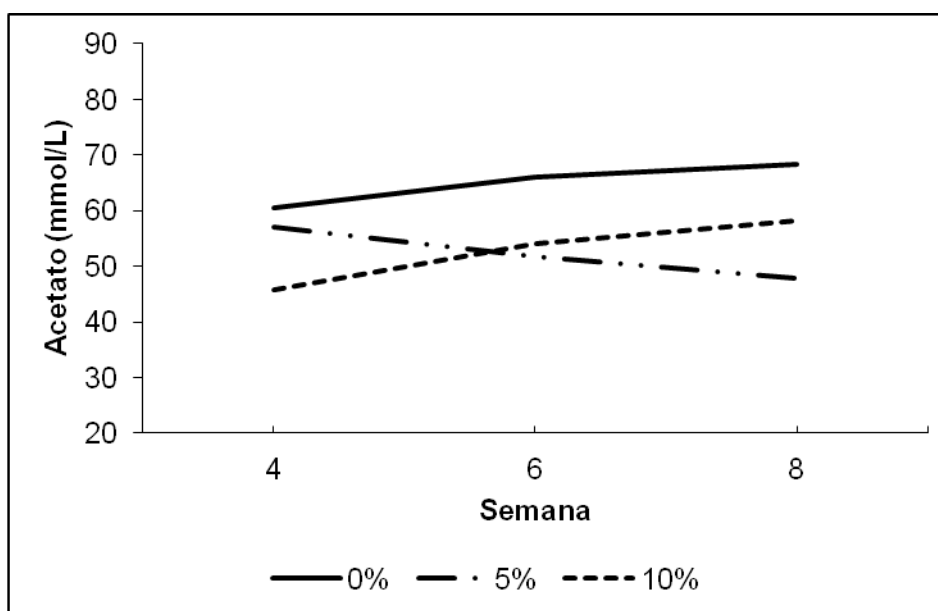


Figura 10 – Concentração molar de ácido acético no fluido ruminal de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

De acordo com os dados da Tabela 7, pode-se observar que houve diferenças entre os tratamentos para as concentrações molares de ácido propiônico ($P < 0,05$). Da mesma forma, com o avanço da idade, ocorreram aumentos significativos nas concentrações molares deste ácido no fluido ruminal dos animais ($P < 0,0001$), o que possivelmente pode ser justificado pelo aumento no consumo de concentrado. Os dados médios são semelhantes aos observados por Suárez et al. (2006).

DeFrain et al. (2004) e Trabue et al. (2007), relataram que animais adultos suplementados com glicerol apresentaram maiores proporções molares de propionato e butirato no fluido ruminal e uma diminuição na concentração molar de acetato. Linke et al. (2004) verificaram que a administração de 1 kg de glicerol como um suplemento dietético aumentou a concentração molar de propionato e butirato ruminal independente do método de fornecimento para vacas em lactação. Contudo, os valores de propionato para os tratamentos contendo glicerina bruta não foram superiores à dieta controle, o que possivelmente se deve ao nível mais baixo de inclusão deste ingrediente nas dietas avaliadas neste experimento.

Como pode ser observado na Tabela 7, houve maior produção de propionato nos tratamentos 0% e 10% de glicerina em relação à dieta contendo 5% ($P < 0,05$). Através da Figura 11 perceber-se uma queda na produção média de propionato do tratamento 5% a partir da sexta semana do período experimental ($P = 0,11$, Tabela 7). A queda na produção deste ácido pode ter ocorrido em função de uma acidose ruminal nos animais desse tratamento, justificada pelo menor valor de pH (abaixo de 5) nesse mesmo período (Figura 8).

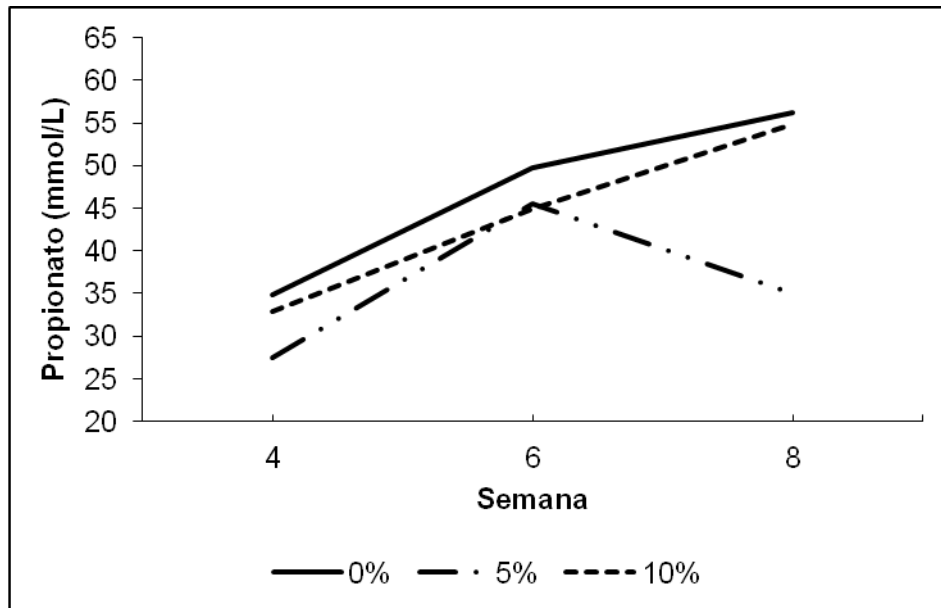


Figura 11 – Concentração molar de ácido propiônico no fluido ruminal de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

As concentrações molares de ácido butírico não apresentaram efeito significativo de acordo com a inclusão de glicerina bruta no concentrado, assim como efeito de idade ou da interação tratamento x idade dos animais ($P > 0,05$). Os dados encontrados estão de acordo com valores encontrados na literatura para bezerros em aleitamento até a oitava semana (BERHARKA et al., 1998; SUÁREZ et al., 2006). Contudo, esperava-se que houvesse um aumento nas concentrações deste ácido com a inclusão de glicerina no concentrado inicial, assim como com o avanço da idade dos bezerros.

É possível que a ausência desse aumento seja resultado da utilização de butirato para o crescimento epitelial (ANDERSON et al., 1987; TAMATE et al., 1962), ou a um aumento na captação ruminal de butirato evidenciado pela elevação na concentração sanguínea de BHBA dos animais ao longo do período experimental.

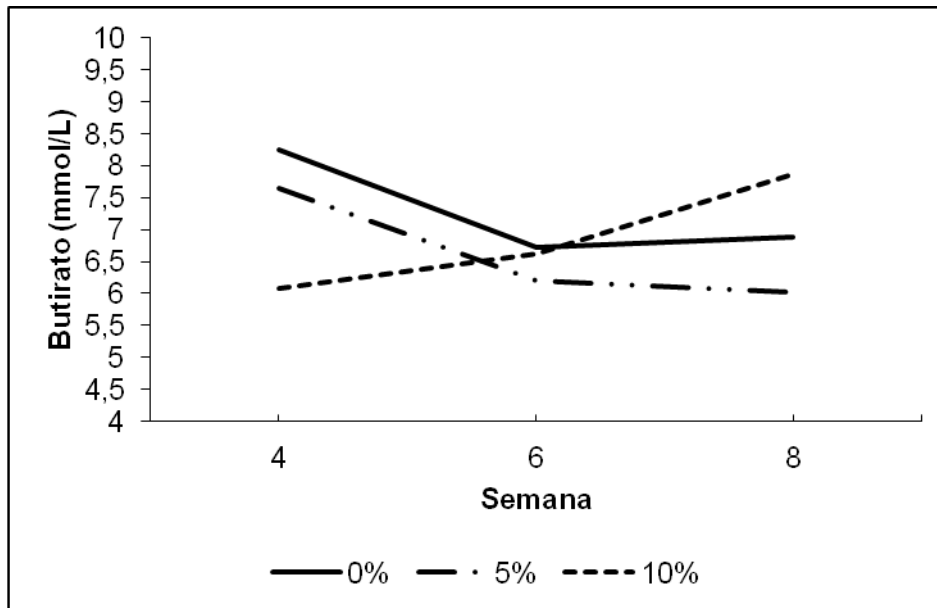


Figura 12 – Concentração molar de ácido butírico no fluido ruminal de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

Observando a Tabela 7, pode-se concluir que houve diferença significativa sobre a relação acetato:propionato em função da inclusão de glicerina bruta no concentrado inicial, assim como para idade dos animais ($P < 0,05$). Os tratamentos contendo glicerina bruta não diferiram entre si, no entanto, apresentaram significativamente menor relação que o tratamento controle. A explicação para o ocorrido possivelmente se deve a maior produção de propionato em detrimento a produção de acetato em dietas contendo glicerina bruta (Donkin et al., 2009), ricas em concentrado e pobre em fibra.

A relação acetato:propionato diminuiu com a idade (Figura 13), provavelmente influenciado pela maior produção de propionato em detrimento a produção de acetato e pelo aumento no consumo de concentrado com o avanço da idade dos animais. Quigley et al. (1992) observaram menores valores na relação acetato:propionato em bezerros consumindo alto concentrado durante o período de aleitamento. Abo El-Nor et al. (2010) avaliando a fermentação ruminal *in vitro*, investigaram o impacto de proporções crescentes de glicerol (0, 3,6, 7,2 ou 10,8% MS) sobre a fermentação ruminal de substratos contendo 60% de feno de alfafa e concentrado. Estes autores observaram que à medida que se elevou a dose de glicerina, a produção de AGCC total aumentou, e que a relação acetato:propionato diminuiu linearmente. Schröder e Südekum (1999), avaliando quatro novilhos

fistulados no rúmen e alimentados com glicerina em substituição ao amido da dieta, observaram que o glicerol diminuiu a relação acetato:propionato.

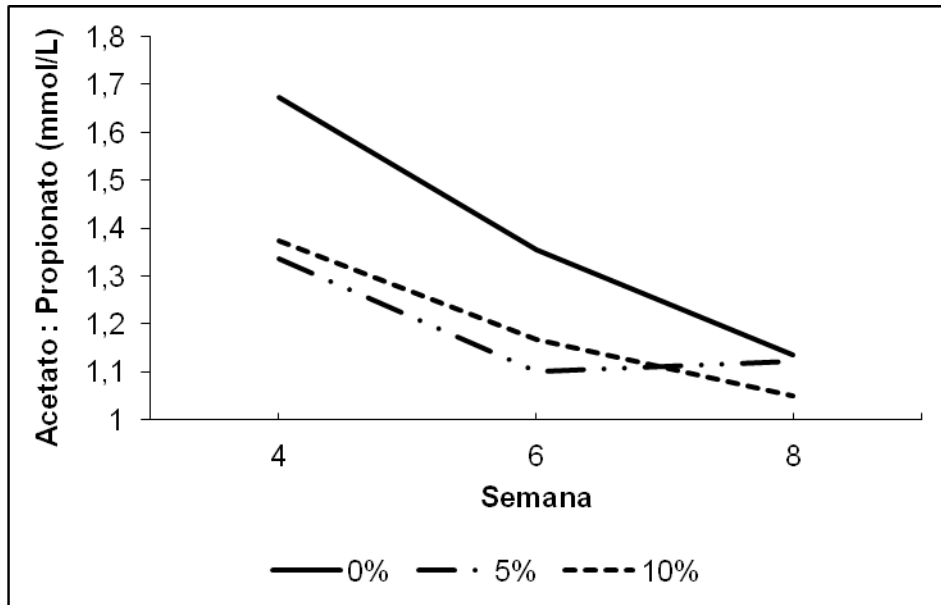


Figura 13 – Valores da relação acetato / propionato de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

4.4 Parâmetros sanguíneos

Os valores médios de concentração de glicose, lactato, β -Hidróxibutirato (BHBA) e proteína total encontram-se na Tabela 8 e como pode ser observado não houve efeito significativo entre os tratamentos e efeito de interação tratamento x idade ($P > 0,05$) para a concentração de glicose no plasma, entretanto, foi observado efeito significativo para idade dos animais ($P < 0,05$).

Tabela 8 – Concentração plasmática de glicose, lactato, β -Hidroxibutirato e proteína total em bezerros recebendo 0, 5 e 10% de glicerina bruta como substituto para o milho no concentrado inicial

	Tratamento ¹			EPM ²	P< ³		
	0%	5%	10%		T	I	TxI
Glicose, mg/dL							
Ao desaleitamento	103,26	102,22	100,09	7,31	1,000
Média do período	96,50	90,70	94,00	5,80	0,743	0,007	0,992
βHBA, mmol/L							
Ao desaleitamento	0,15	0,17	0,18	0,02	0,999
Média do período	0,13	0,13	0,12	0,01	0,865	<0,0001	0,321
Proteína total, g/dL							
Ao desaleitamento	5,92	6,12	6,25	0,24	0,999
Média do período	6,23	6,40	6,33	0,19	0,585	<0,0001	0,585
Lactato, mg/dL							
Ao desaleitamento	9,33	11,12	12,06	1,94	1,000
Média do período	11,66	11,66	11,70	0,80	0,998	0,306	0,982

¹Concentrado inicial com substituição do milho por 0, 5 e 10% de glicerina bruta

²EPM = erro padrão da média

³T = efeito do tratamento; I = efeito da idade dos animais; T x I = efeito da interação tratamento e idade dos animais

Nota: Sinal convencional utilizado:

.. Não se aplica dado numérico.

A concentração de glicose plasmática observada em bezerros na primeira semana de vida é semelhante à concentração observada em animais monogástricos, estando em torno de 115 mg/dL. No entanto, à medida que ocorre o desenvolvimento ruminal e o animal através da fermentação passa a produzir AGGC, os valores diminuem e por volta da nona semana se apresentam próximos ao encontrado em animais adultos, em torno de 75 mg/dL (QUIGLEY et al., 1991). As reduções que ocorrem ao longo desse período são influenciadas principalmente pela dieta e desenvolvimento ruminal. Inicialmente, o leite através da lactose fornece a glicose necessária aos tecidos, tão logo o animal passa a produzir AGCC, em consequência do desenvolvimento ruminal, esses ácidos passam a responder pelo fornecimento de glicose através da gliconeogênese hepática (BALDWIN et al., 2004). Khan et al. (2007) relataram que houve diminuição dos níveis de glicose no

plasma, com o aumento no consumo de alimentos sólidos por bezerros da raça Holandês em aleitamento convencional.

Esperava-se que a glicose sanguínea diminuísse com o avanço da idade, entretanto, no presente estudo, a glicose apresenta flutuação ao longo do período (Figura 14), onde há uma queda até por volta da quarta e quinta semana de idade e o aumento a partir da sexta semana de vida dos animais. Esse aumento da glicose plasmática a partir da sexta semana pode ser em decorrência da glicose obtida através do sucedâneo juntamente com o aumento no consumo de concentrado com o avanço da idade. O sucedâneo forneceu parte da glicose e a gliconeogênese hepática a partir do propionato ruminal absorvido, poderiam justificar o aumento da glicose circulante. O aumento na produção de propionato ruminal com o avanço da idade observado na Figura 11 corrobora esses resultados. Segundo Sauer et al. (1989); Theurer et al. (1999), a maior produção de propionato no rúmen pode resultar em maiores níveis de glicose plasmática devido a sua intensa produção através da gliconeogênese hepática. Além disso, os valores de glicose plasmática tendem a aumentar no período de aleitamento em função da lactose presente no leite ou substituto do leite fornecido aos animais (Quigley, 1991).

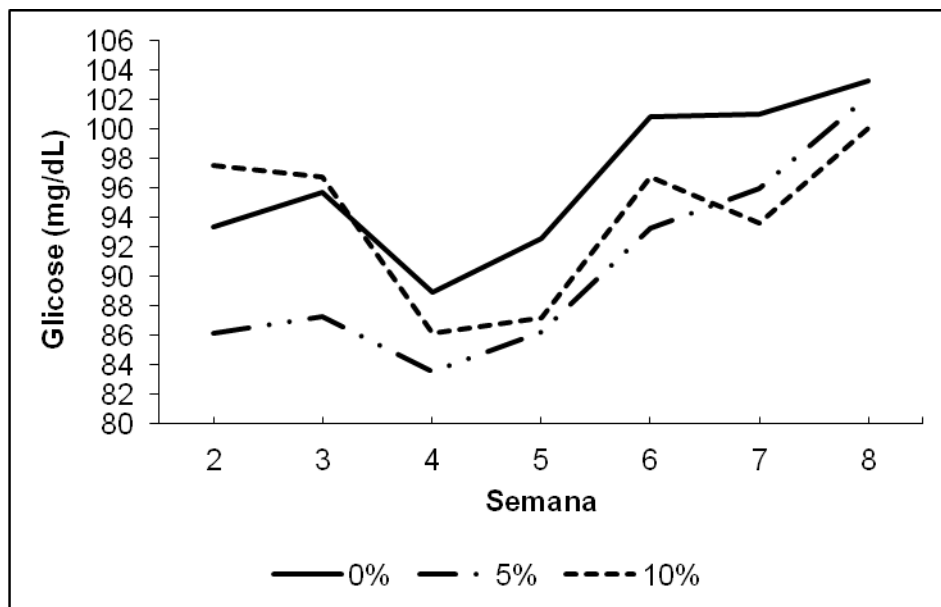


Figura 14 – Concentrações plasmáticas de glicose de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

O glicerol tem seu efeito de aumentar a glicose plasmática comprovado, principalmente por ser utilizado no tratamento de cetose em vacas no período de transição (JOHNSON, 1954), o que pode justificar também o aumento da glicose circulante nos animais que receberam os tratamentos contendo glicerina bruta. Parker et al. (2007) relataram maiores concentrações de glicose no sangue de animais transportados, suplementados com 642 g de glicerol puro 48 h antes do abate, do que nos animais não suplementados. Goff e Horst (2001) relataram um aumento da glicose plasmática quando se administrou glicerol através de sonda esofágica. Alguns trabalhos observaram aumento linear na concentração de glicose plasmática de acordo com a suplementação dietética de glicerina (0, 100, 200 ou 300 g, WANG et al., 2008) ou com a inclusão da mesma na dieta (0, 5, 10 ou 15%, Donkin et al., 2009). No entanto, há relatos divergentes sobre o aumento da glicose plasmática em animais suplementados com glicerina (CHUNG et al., 2007; BOYD et al., 2009; RICO et al., 2009). De acordo com Krehbiel (2008), a quantidade fornecida e a taxa de absorção do glicerol através do epitélio ruminal em relação à quantidade que é fermentada, podem determinar a gliconeogenicidade do glicerol em animais ruminantes.

Contudo, mesmo com o aumento da glicose a partir da sexta semana, a concentração plasmática de glicose observada neste experimento encontra-se de acordo com os valores observados por Huber (1969). Segundo esse autor, durante a fase de aleitamento os bezerros apresentam concentrações plasmáticas de glicose entre 90 a 100 mg/dL por volta da sexta semana de vida. Além disso, a alteração nos níveis de glicose com a idade dos animais é um indicativo de adequado desenvolvimento ruminal.

Os valores médios encontrados para a concentração de β -Hidroxibutirato (BHBA) ao longo do período não foram afetados significativamente pela inclusão de glicerina bruta no concentrado inicial (Tabela 8), não havendo também efeito da interação tratamento x idade ($P > 0,05$). No entanto, houve efeito com o avanço da idade dos animais ($P < 0,05$). Como podem ser observadas na Figura 15, as concentrações plasmáticas de BHBA aumentaram significativamente ao longo do período de avaliações ($P < 0,0001$). Os valores observados apresentam-se dentro dos relatados por outros autores avaliando bezerros em aleitamento com idade semelhante (QUIGLEY et al., 1991; 1992; KLOTZ et al., 2006).

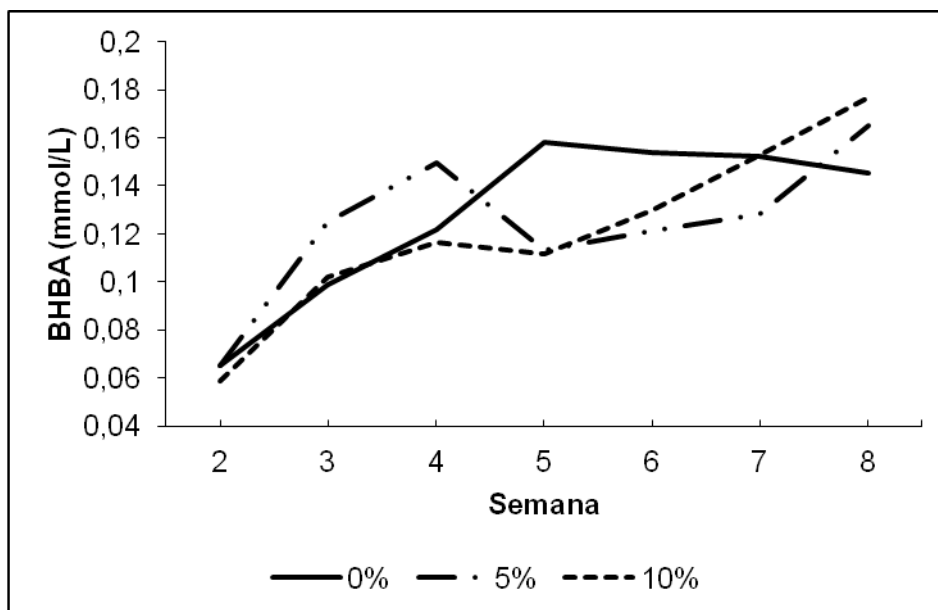


Figura 15 – Concentrações plasmáticas de BHBA de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

Os dados de concentração de butirato ruminal com o avanço da idade dos animais para os diferentes tratamentos, se mantêm inalterados (Figura 12), enquanto que os valores de BHBA aumentaram com o avanço da idade, indicando que o butirato pode ter sido utilizado para o metabolismo da parede ruminal. Segundo Lane et al. (2000), o BHBA é uma medida importante do metabolismo epitelial do rúmen e indica atividade de conversão do butirato ruminal em β -hidroxi butirato à medida que passa pela parede ruminal. Dados da literatura mostram que 26 a 33% do butirato absorvido pelas papilas ruminais são convertidas em BHBA (WEIGAND et al., 1975). Diante disso, entende-se que existe uma estreita relação entre as concentrações de BHBA no plasma e as proporções molares de ácido butírico no fluido ruminal. Sendo assim, ocorre um aumento nas concentrações plasmáticas de BHBA à medida que o animal passa da fase de pré-ruminante para ruminante funcional. Quigley et al. (1992) relataram aumento nas concentrações de BHBA e sua alta correlação com consumo de matéria seca, sugerindo a formação deste a partir de produtos finais de fermentação ruminal. Greenwood et al. (1997) também encontraram aumentos na concentração de BHBA no plasma de bezerros com o avanço da idade e alta correlação com a elevação do metabolismo do epitélio ruminal. Segundo estes autores, as concentrações plasmáticas de BHBA podem refletir o aumento na concentração de butirato no

rúmen, além da maturidade do tecido epitelial no que diz respeito ao metabolismo deste AGCC. Nesse sentido, diversos pesquisadores tem destacado o BHBA do plasma como um importante indicador de desenvolvimento ruminal em animais jovens.

A concentração de Proteína total (PT) no plasma ao longo do período de avaliação sofreram alterações significativas com a idade dos animais ($P < 0,0001$) (Tabela 8). Entretanto, não foram identificadas diferenças entre os tratamentos e efeito da interação tratamento x idade ($P > 0,05$). A proteína total no sangue é composta por albumina, fibrinogênio e globulinas. Sua variação ao longo do tempo ocorre em função da transferência passiva de anticorpos no início da vida, catabolismo e anabolismo desses componentes (MACHADO NETO et al., 1986).

A determinação de proteínas totais presente no plasma de bezerros também pode ser utilizada para avaliar a saúde e nutrição do animal. Os valores de referência em sangue bovino situam-se entre 6,0 e 8,5 g/dL, deste modo, baixos valores séricos são verificados em situações de baixa proteína na dieta, insuficiência hepática; aproveitamento inadequado da proteína ingerida; hemorragias e perda da proteína intestinal ou renal. Por outro lado, quadros de desidratações, doenças crônicas ou agudas podem induzir a concentrações elevadas no sangue (LUCA et al., 2002).

Os valores médios de proteína total séricas neste estudo se apresentaram de acordo com o recomendado para bovinos saudáveis e próximo a $5,80 \pm 1,20$ g/dl como encontrado por Susin et al. (1987), avaliando bezerros durante os primeiros 60 dias de vida. Como observado através da Figura 16, os níveis séricos de proteína total diminuíram com o avanço da idade dos animais. Segundo Machado Neto et al. (1986), a queda nas concentrações plasmáticas de proteínas totais ocorridas por volta de 30 dias de idade, podem ser consequência da redução de anticorpos adquiridos passivamente através da ingestão de colostro nos primeiros dias de vida. O autor relata também, que após esse período o animal passa a produzir endogenamente imunoglobulinas e os níveis plasmáticos de proteína total tendem a elevar.

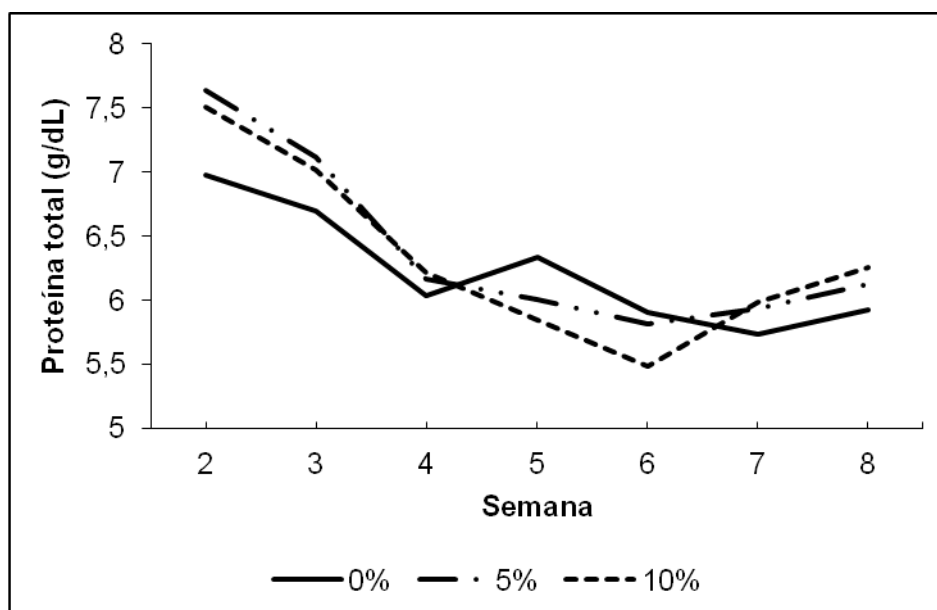


Figura 16 – Concentrações plasmáticas de proteína total de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

As concentrações plasmáticas de lactato não foram afetadas pelos tratamentos, idade e efeito de interação tratamento x idade ($P > 0,05$) (Tabela 8). Entretanto, houve uma tendência em diminuir com o avanço da idade dos animais como pode ser observado na Figura 17. O Lactato na circulação periférica pode se originar a partir da fermentação ruminal, da glicólise endógena e do metabolismo do propionato pela parede ruminal. Segundo Bergman (1990), até 50% do propionato ruminal pode sofrer metabolismo pelo epitélio ruminal e gerar como produtos finais CO_2 , piruvato, lactato, e, em menor grau, aminoácidos. Além disso, o lactato é um metabólico precursor para o processo de gliconeogênese hepática em ruminantes, um processo de extrema importância no metabolismo energético tanto de neonatos como de ruminantes adultos (YOUNG, 1977). Diante disso, o lactato ao longo do tempo pode ter sido direcionado para a gliconeogênese hepática, o que pode explicar a tendência de sua diminuição com o avanço da idade dos animais e com isso, contribuiu para o aumento da glicose sanguínea a partir da quinta semana demonstrada na figura 14.

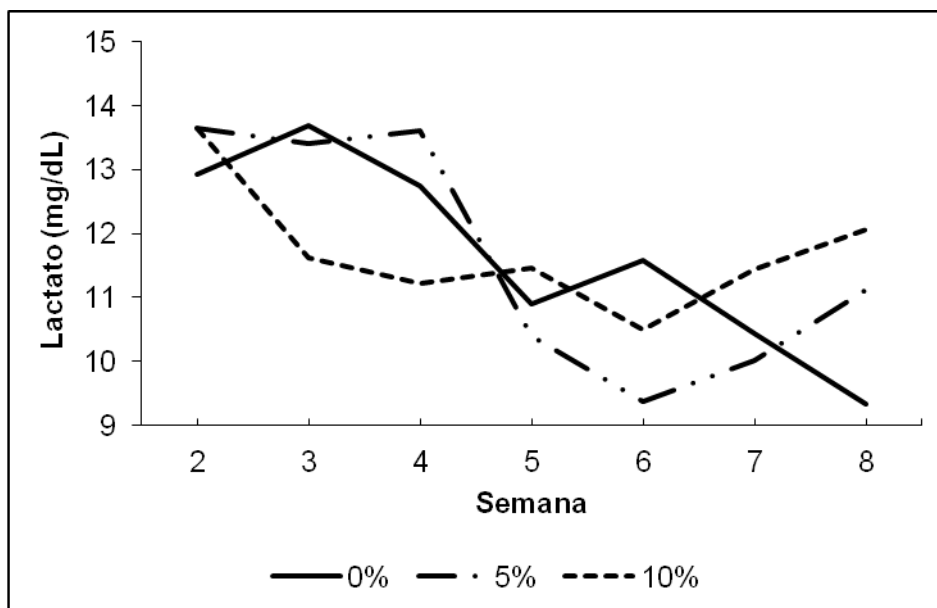


Figura 17 – Concentrações plasmáticas de lactato de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

De acordo com Kosloski (2002), quando a dieta é à base de concentrado e o consumo é elevado, o fígado é capaz de absorver apenas uma pequena parte do lactato, deste modo pode haver uma grande quantidade de lactato disponível para os tecidos periféricos. Nesse sentido, os animais deste estudo apresentaram aumento no consumo de concentrado ao longo do período experimental, entretanto como pode ser observado na Tabela 17, não houve diferenças significativas na concentração sanguínea de lactato com o avanço da idade o que pode corroborar também para o direcionamento do lactato para a gliconeogênese hepática.

4.5 Desenvolvimento do trato digestório superior

Os dados relativos à avaliação das medidas morfométricas do trato digestório superior encontram-se apresentados na Tabela 9. Como pode ser observado, não foram encontradas diferenças entre os tratamentos ($P > 0,05$) para o peso do trato digestório superior total, para a capacidade do retículo-rúmen, assim como para o peso de cada compartimento quando dividido em retículo-rúmen, omaso e abomaso. Também não houve diferenças nestes compartimentos quando expressos em porcentagem do trato total. Os valores observados neste estudo são superiores aos encontrados por Nussio et al. (2003b) e Ferreira et al. (2009),

provavelmente devido ao menor consumo de concentrado pelos animais obtido por esses autores e comparação a este estudo.

Tabela 9 – Medidas morfométricas do trato digestório superior de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

	Tratamentos ¹			EPM ²	P< ³
	0%	5%	10%		
Trato total, g	1.873,0	1.650,1	1.661,0	120,00	0,36
Retículo-rúmen, g	1.261,0	1.112,8	1.112,0	90,00	0,43
% Trato total	67,33	67,10	66,87	1,58	0,98
Capacidade, L	13,80	11,78	12,16	0,83	0,25
Omaso, g	251,0	216,3	214,0	20,00	0,51
% Trato total	13,35	13,33	12,87	1,18	0,95
Abomaso, g	351,0	318,9	333,0	10,00	0,51
% Trato total	18,80	19,52	20,15	0,94	0,57

¹Concentrado inicial com substituição do milho por 0, 5 e 10% de glicerina bruta

²EPM = erro padrão da média

³P = efeito do tratamento

A proporção dos compartimentos em relação ao trato total apresentou-se de acordo com a literatura para animais desta idade (WARNER; FLATT; LOOSLI, 1956; CHURCH, 1988). Segundo Quigley (1996b), o retículo-rúmen de um animal com 4 semanas de vida corresponde a 60% do total dos quatro compartimentos, o abomaso a 27%, e o omaso somente a 13%. As alterações nas proporções entre os compartimentos do trato digestório superior são altamente dependentes do consumo de dieta sólida, mais especificamente de alimento concentrado. Dessa forma, uma vez que o consumo de concentrado não foi afetado pela inclusão de glicerina bruta em substituição ao milho e os animais apresentaram consumo adequado, também não houve efeito negativo da glicerina sobre o desenvolvimento do trato digestório superior e este consequentemente obteve crescimento satisfatório.

De acordo com Davis e Drackley (1998), os ácidos butírico e propiônico são os estimuladores primários do crescimento do tecido, em parte por serem extensivamente metabolizados pelo epitélio ruminal durante a absorção. Este metabolismo fornece energia para o crescimento do tecido epitelial e contrações musculares. Adicionalmente, butirato e propionato apresentam diferentes efeitos na

proliferação e diferenciação das células do epitélio ruminal. Diante disso, os valores encontrados para as concentrações médias de propionato e butirato ruminal neste estudo corroboram para o bom crescimento e desenvolvimento ruminal. Segundo Krehbiel (2008), a fermentação ruminal do glicerol corresponde a 44% do glicerol consumido, sendo o propionato e butirato os principais produtos da fermentação deste no rúmen, o que justifica o bom desenvolvimento também para os animais que receberam os tratamentos contendo glicerina bruta.

Outro parâmetro que corrobora para o bom crescimento ruminal encontrado, seria o aumento na concentração sanguínea de BHBA com o avanço da idade dos animais (Figura 15) aliado ao não aumento na concentração ruminal de butirato (Figura 12). Esse aumento na concentração de BHBA seria um Indicativo que o butirato ruminal estaria sendo metabolizado na parede ruminal desses animais e dessa forma contribuindo para o seu crescimento e desenvolvimento.

Tabela 10 – Medidas de desenvolvimento do epitélio ruminal de bezerros recebendo 0, 5 e 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

	Tratamentos ¹			EPM ²	P< ³
	0%	5%	10%		
Número por cm²	84,2	103,72	92,63	11,30	0,52
Altura de papilas, mm	1,75	1,63	1,96	0,031	0,80
Largura de papilas, mm	1,06	1,06	1,16	0,011	0,74

¹Concentrado inicial com substituição do milho por 0, 5 e 10% de glicerina bruta

²EPM = erro padrão da média

³P = efeito do tratamento

Neste estudo, dados relativos às medidas de desenvolvimento do epitélio ruminal com medidas de número de papilas por cm², altura e largura (Tabela 10), não foram afetados pelos tratamentos (P>0,05). A altura das papilas do rúmen, não atingiram o crescimento adequado, com valor médio de 1,78 mm; sendo que a literatura recomenda que bezerros com oito semanas de idade apresentem uma altura entre 5 a 7mm (HUBER, 1969). No entanto, Coelho (2000), utilizando técnica de mensuração papilar semelhante à utilizada neste trabalho, obteve valores similares de dimensões papilares aos obtidos neste experimento. Já Ferreira et al.

(2009); Silva et al. (2011) encontraram valores de dimensões papilares acima do observado neste trabalho, mas abaixo do recomendado pela literatura.

De acordo com estudos realizados por Sander et al. (1959) e Sutton et al. (1963), com bezerros em aleitamento, o butirato juntamente com o propionato seriam os AGCC mais importantes para promover o desenvolvimento papilar. Dessa forma, acreditava-se que o fornecimento da glicerina na dieta dos animais ocorresse um aumento no seu desenvolvimento frente à dieta controle, já que estes ácidos são os principais produtos de sua fermentação (TRABUE et al., 2007), entretanto, essa suspeita não se confirmou e os tratamentos apresentaram resultados semelhantes.

Contudo, segundo Lesmeister e Heinrichs (2004), os resultados de mensurações de papilas geralmente apresentam grande variabilidade entre os dados, principalmente por se tratar de um procedimento passível de erros, portanto, devendo ser utilizada com cuidado para inferir sobre o desenvolvimento da mucosa ruminal de bezerros ao desaleitamento. Essa variabilidade e por ser um procedimento passível de erros, provavelmente pode ser a explicação para o baixo desenvolvimento das papilas já que se esperava um melhor desenvolvimento das mesmas.

5 CONCLUSÕES

O desempenho e o metabolismo energético dos bezerros não foram afetados de forma negativa pela substituição do milho por glicerina bruta no concentrado inicial de bezerros até a taxa de 10%. Desse modo, a glicerina pode ser utilizada como ingrediente energético alternativo no concentrado inicial de bezerros leiteiros no período de aleitamento sem afetar o crescimento, o desenvolvimento ou o metabolismo do animal.

REFERÊNCIAS

ABO EL-NOR, S.; ABU GHAZELEH, A.A.; POTU, R.B.; HASTINGS, D.; KATTAB, M.S.A. Effects of differing levels of glycerol on rumen fermentation and bacteria. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 162, p. 99-105, 2010.

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

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GAS NATURAL E BIOCMBUSTIVEIS. **Biodisel**. Brasília, 2012. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br>>. Acesso em: 17 fev. 2012.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução nº 386 de 5 de Agosto de 1999**. Brasília, 1999. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/alimentos/aditivosalimentares.htm>>. Acesso em: 20 fev. 2011.

ANDERSON, K.L.; NAGARAJA, T.G.; MORRIL, J.L. Ruminant metabolic development in calves weaned conventionally or early. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 70, p. 1000-1005, 1987.

ANDERSON, M.J.; KHOYLOO, M.; WALTERS, J.L. Effect of feeding whole cottonseed on intake, body weight, and reticulorumen development of young Holstein calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 65, p. 764-772, 1982.

BALDWIN, R.L.; MCLEOD VI, K.R.; KLOTZ, J. L.; HEITMANN, R.N. Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre- and post-weaning ruminant. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, E-suppl. 1, p. E55–E65, 2004.

BEHARKA, A.A.; NAGARAJA, T.G.; MORRILL, J.L. Performance and ruminal function development of young calves fed diets with *Aspergillus oryzae* fermentation extract. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, p. 4326-4336, 1991.

BEHARKA, A.A.; NAGARAJA, T.G.; MORRILL, G. A.; KENNEDY, G.A.; KLEMM, R.D. Effects of form of the diet on anatomical, microbial, and fermentative development of the rumen of neonatal calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, p. 1946-1955, 1998.

BERGMAN, E.N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiological Reviews**, Bethesda, v. 70, p. 567-590, 1990.

BERGNER, H.; KIJORA, C.; CERESNAKOVA, Z.; SZAKACS, J. In vitro studies on glycerol transformation by rumen microorganisms. **Archives Tierernahrung**, Berlin, v. 48, p. 245-256, 1995.

BERNARDES, E.B.; COELHO, S.G.; CARVALHO, A.U.; OLIVEIRA, H.N.; REIS, R.B.; SATURNINO, H.M.; SILVA, C.A.; COSTA, T.C. Efeito da substituição do feno de *Tifton 85* pelo caroço de algodão como fonte de fibra na dieta de bezerras.

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo horizonte, v. 59, n. 4, p. 955-964, 2007.

BODARSKI, R.; WERTELECKI, T.; BOMMER, F.; GOSIEWSKI, S. The changes of metabolic status and lactation performance in dairy cows under feeding TMR with glycerin (glycerol) supplement at periparturient period. **Electronic Journal of Polish Agricultural Universities**, Animal Husbandry, Poland, 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, E-suppl. 1, p. 88, 2009.

BRAMBILLA, S.; HILL, F.W. Comparison of neutral fat and free fatty acids in high lipid-low carbohydrates diets for the growing chicken. **Journal Nutrition**, Bethesda, v. 88, p. 84-92, 1966.

BRISSON, D.; VOHL, M.C.; ST.-PIERRE, J.; HUDSON T.J.; GAUDET, D. Glycerol: A neglected variable in metabolic processes? **Bioessays**, Cambridge, v. 23, p. 534-542, 2001.

CAMPOS, F.P.; NUSSIO, C.M.B.; NUSSIO, L.G. **Métodos de análises de alimentos**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 135 p.

CARVALHO, J.R.R.; LADEIRA, M.M.; CHIZZOTTI, M.L.; GONÇALVES, T.M.; OLIVEIRA, D.M.; TEIXEIRA, P.D.; NOGUEIRA NETO, A.; SILVA, P.T. Blood profile of bulls fed different levels of crude glycerin. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, E-suppl. 1, p. 114, 2011.

CHILIBROSTE, P.; ELIAS, A.; MARCHELLI, J.P. Use of corn or crude glycerol as energy source to supplement holstein calves fed with sorghum silage ad-libitum.

Journal of Animal Science, Champaign, v. 89, E-suppl. 1, p. 198, 2011.

CHUNG, Y.H.; RICO, D.E.; MARTINEZ, C.M.; CASSIDY, T.W.; NOIROT, V.; AMES, A.; VARGA, G.A. Effects of feeding dry glycerin to early postpartum holstein dairy cows on lactational performance and metabolic profiles. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 90, n. 8, p. 5682-5691, 2007.

CHURCH, D. C. **The ruminant animal**: digestive physiology and nutrition. New Jersey: Prentice-Hall, 1988. 564 p.

CODE OF FEDERAL REGULATIONS. Glycerine. **Office of Federal Register, National Archives and Records Administration**, Washington, v. 6, T. 21, CFR. 582.1320, 2004.

COELHO, S.G.; SATURNINO, H.M.; CALIARI, M.V.; OLIVEIRA, H.N.; CARVALHO, A.U.; GONÇALVES, G.C.R. pH ruminal, tamanho e área das papilas do saco ventral até os 90 dias de idade de bezerros desmamados aos 30 dias e alimentados com ou sem volumoso até os 60 dias. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37., 2000, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, 2000. 1 CD-ROM.

COVERDALE, J.A.; TYLER, H.D.; QUIGLEY, J.D.; BRUMM, J.A. Effect of various levels of forage and form of diet on rumen development and growth in calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, n. 8, p. 2554-2562, 2004.

CZERKAWSKI, J.W.; BRECKENRIDGE, G. Fermentation of various glycolytic intermediates and other compounds by rumen micro-organisms, with particular reference to methane production. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 27, p. 131-146, 1972.

DASARI, M.A.; KIATSIMKUL, P.P.; SUTTERLIN, W.R.; SUPPES, G.J. Low-pressure hydrogenolysis of glycerol to propylene glycol. **Applied Catalysis A: General**, Amsterdam, v. 281, p. 225-231, 2005.

DAVIS, C.L.; DRACKLEY, J.K. **The development, nutrition, and management of the young calf**. Ames: Iowa State University Press, 1998. 339 p.

DEFRAIN, J.M.; HIPPEN, A.R.; KALSCHEUR, K.F.; JARDON, P.W. Feeding glycerol to transition dairy cows: effects on blood metabolites and lactation performance. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, n. 12, p. 4195-4206, 2004.

DONKIN, S.S. Use of glycerin in dairy diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, E-suppl. 2, p.393, 2008.

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 cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, p. 5111-5119, 2009.

DROUILLARD, J.S. Glycerin as a feed for ruminants: Using glycerin in high-concentrate diets. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, E-suppl. 1, n. 490, p. 393, 2008.

EBERT, R.A.; DRACKLEY, J.K. **Efficacy of glycerol as a replacement for lactose in calf milk replacer**. In: Illini Dairy Net Papers, Illinois, 2008. Disponível em <<http://www.livestocktrail.uiuc.edu/dairy.net>>. Acesso em: 12 maio 2012.

FAVARO, V.R.; EZEQUIEL, J.M.B.; D'AUREA, A.P.; VAN CLEEF, E.H.C.B.; SANCANARI, J.B.D.; SANTOS, V.C. Glicerina em substituição ao milho da dieta de bovinos: consumo e digestibilidade aparente da matéria seca, matéria orgânica e nutrientes. In: REUNIAO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47., 2010, Salvador. **Anais...** Salvador: SBZ, 2010. 1 CD-ROM.

FERRARO, S.M.; MENDOZA, G.D.; MIRANDA, L.A.; GUTIÉRREZ, C.G. *In vitro* gas production and ruminal fermentation of glycerol, propylene glycol and molasses. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 154, p. 112-118, 2009.

FERREIRA, L.S.; BITTAR, C.M.M. Performance and plasma metabolites of dairy calves fed starter containing sodium butyrate, calcium propionate or sodium monensin. **Animal Journal**, Cambridge, v. 5, p. 239-245, 2010.

FERREIRA, L.S.; BITTAR, C.M.M.; SANTOS, V.P.; MATTOS, W.R.S.; PIRES, A.V. Efeito da adição de butirato de sódio, propionato de cálcio ou monensina sódica no concentrado inicial sobre parâmetros ruminais e de desenvolvimento do rúmen de bezerros leiteiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, n. 11, p. 2238-2246, 2009.

FISHER, L.J.; ERFLE, J.D.; LODGE, G.A. Effects of propylene glycol or glycerol supplementation on the diet of dairy cows on feed intake, milk yield and composition, and incidence of ketosis. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 53, p. 289-296, 1973.

FRANKLIN, S.T.; AMARAL-PHILLIPS, D.M.; JACKSON, J.A.; CAMBELL, A.A. Health and performance of Holstein calves that suckled or were hand-fed colostrums and were fed one of three physical forms of starter. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, n. 6, p. 2145-2153, 2003.

FROGER, A.; ROLLAND, J.P.; BRON, P.; LAGRÉE, V.; LE CAHÉREC, F.; DESCHAMPAS, S.; HUBERT, T.F.; PELLERIN, I.; THOMAS, D.; DELAMARCHE, C. Functional characterisation of a microbial aquaglyceroporin. **Microbiology**, New York, v. 147, n. 5, p. 1129-1135, 2001.

GOERING, H.K.; Van SOEST, P.J. **Forage fiber analysis (Apparatus, reagents, procedures and some applications)**. Washington: USDA, 1970. 379 p. (Agricultural Handbook).

GOFF, J.P.; HORST, R.L. Oral glycerol as an aid in treatment of ketosis/fatty liver complex. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, E-suppl. 1, p. 153, 2001.

GOLOMBSKI, G.; RAETH-KNIGHT, M.; ZIEGLER, B.; LARSON, D.; ZIEGLER, D.; CHESTER-JONES, H.; LINN, J. Performance of post-weaned holstein heifer calves fed grain mixes with glycerin as an energy source. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, E-suppl. 1, p. 87, 2009.

GONÇALVES, V.L.C. Biogásolina: produção de éteres e ésteres de glicerina. In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DO BIODIESEL, 1., 2006, Brasília. **Anais...** Brasília: ABIPT, 2006. p. 14-19.

GRIFFITHS, W.R. Treatment of pregnancy toxemia in ewes by oral administration of glycerol. **Veterinary Research**, London, v. 64, p. 734, 1952.

GUNN, P.J.; LEMANAGER, R.P.; BUCKMASTER, D.R.; CLAEYS, M.C.; LAKE, S.L. Effects of dried distiller's grains with solubles on performance, carcass characteristics, and metabolic parameters of early weaned beef calves. **Professional Animal Scientist**, Champaign, v. 27, p. 283-294, 2011.

HAGA, S.; FUJIMOTO, S.; YONEZAWA, T.; YOSHIOKA, K.; SHINGU, H.; KOBAYASHI, Y.; TAKAHASHI, T.; OTANI, Y.; KATOH, K.; OBARA, Y. Changes in hepatic key enzymes of dairy calves in early weaning production systems. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, p. 3156-3164, 2008.

HAMMON, H.; BLUM, J.W. Metabolic and endocrine traits of neonatal calves are influenced by feeding colostrum for different durations or only milk replacer. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 128, p. 624-632, 1998.

HEINRICHS, A.J.; HARGROVE, G.L. Standards of weight and height for Holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 70, p. 653-660, 1987.

HEINRICHS, A.J.; HEINRICHS, B.S. A prospective study of calf factors affecting first-lactation and lifetime milk production and age of cows when removed from the herd. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, p. 336-341, 2011.

HEINRICHS, A.J.; LOSINGER, W.C. Growth of Holstein dairy heifers in the United States. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 76, p. 1254-1260, 1998.

HEINRICHS, A.J.; ERB, H.N.; ROGERS, G.W.; COOPER, J.B.; JONES, C.M. Variability in Holstein heifer heart-girth measurements and comparison of prediction equations for live weight. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 78, p. 333-338, 2007.

HENN, J.D.; ZANIN, A. O Agronegócio do biodiesel: potencialidades e limitações da utilização da glicerina (co-produto) na alimentação de suínos e de aves. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 47., 2009, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: SOBER, 2009. v. 1, p. 1-14.

HOBSON, P.N.; MANN, S.O. The isolation of glycerol-fermenting and lipolytic bacteria from the rumen of the sheep. **Journal of General Microbiology**, London, v. 25, p. 227-240, 1961.

HOFFMAN, P. Optimum body size of Holstein replacement heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 836-845, 1997.

HUBER, J.T. Development of the digestive and metabolic apparatus of the calf. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 52, n. 8, p. 1303-1315, 1969.

ILSE, B.R.; ANDERSON, V.L. Effect of glycerol in feedlot diets on animal performance. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 1, p. 89, 2009.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa da Pecuária Municipal e Censo Agropecuário: SIDRA**. Brasília, 2010. Disponível em <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 10 jul. 2012.

INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY. **Compendium of chemical terminology**. 2nd ed. Oxford: Blackwell Scientific, 1997. 1351 p.

JOHNS, A.T. Fermentation of glycerol in the rumen of sheep. **New Zealand Journal ScienceTechnology**, Wellington, v. 35, p. 262-269, 1953.

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

KERR, B.J.; WEBER, T.E.; DOZIER III, W.A.; KIDD, M.T. Digestible and metabolizable energy content of crude glycerin originating from different sources in nursery pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 87, p. 4042-4049, 2009.

KERTZ, A.F.; CHESTER-JONES, H. Invited review: guidelines for measuring and reporting calf and heifer experimental data. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, p. 3577-3580, 2004.

KERTZ, A.F.; PREWITT, L.R.; EVERETT JR., J.P. An early weaning calf program: summarization and review. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 62, p. 1835-1843, 1979.

KHAN, M.A.; LEE, H.J.; LEE W.S.; KIM, H.S.; KI, K.S.; HUR, T.Y.; SUH, G.H.; KNAG, S.J.; CHOI, Y.J. Structural growth, rumen development, metabolic and immune response of Holstein male calves fed milk through step-down and conventional methods. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 90, p. 3376-3387, 2007.

KIJORA, C.; BERGNER, H.; GOTZ, K.P.; BARTELT, P.; SZAKACS, J.; SOMMER, A. Research note: investigation on the metabolism of glycerol in the rumen of bulls. **Archives Tierernahrung**, Berlin, v. 51, p. 341-348, 1998.

KLOTZ, J.L.; HEITMANN, R.N. Effects of weaning and ionophore supplementation on selected blood metabolites and growth in dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, p.3587–3598, 2006.

KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. Santa Maria: Editora da Universidade Federal de Santa Maria, 2002. 140 p.

KREHBIEL, C.R. Ruminant and physiological metabolism of glycerin. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.86, n. 489, p. 392, E-suppl. 2, 2008.

KRUEGER, N.A.; ANDERSON, R.C.; TEDESCHI, L.O.; KRUEGER, W.K.; NISBET, D.J. Effects of feeding glycerol on fermentation kinetics of alfalfa hay. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, suppl. 1, p. 87, 2009.

LAMMERS, P.J., KERR, B.J.; WEBER, T.E.; DOZIER III, W.A.; KIDD, M.T.; BREGENDAHL, K.; HONEYMAN, M.S. Digestible and metabolizable energy of crude glycerol in pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, p. 602-608, 2008.

LANE, M.A.; BALDWIN, R.L.; JESSE, B.W. Sheep rumen metabolic development in response to age and dietary treatments. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, p. 1990-1996, 2000.

LARSON, L.L.; OWEN, F.G.; ALBRIGHT, J.L.; APPLEMAN, R.D.; LAMB, R.C.; MULLER, L.D. Guidelines toward more uniformity in measuring and reporting calf experimental data. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 60, p. 989-991, 1977.

LEHNINGER, A.; NELSON, D.; COX, M. **Lehninger principles of biochemistry**. 5th ed. New York: Hardcover, W.H. Freeman, 2008. 1100 p.

LESMEISTER, L.E.; HEINRICHS, A.J. Effects of corn processing on growth characteristics, rumen development, and rumen parameters in neonatal dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, p. 3439-3450, 2004.

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

LIN, E.C.C. Glycerol utilization and its regulation in mammals. **Biochemistry – Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v. 46, p. 765-795, 1977.

LINKE, P.L.; DEFRAIN, J.M.; HIPPEN, A.R.; JARDON, P.W. Ruminant and plasma responses in dairy cows to drenching or feeding glycerol. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, n. 343, E-suppl. 1, 2004.

LUCA, G.C.; REIS, B.F. Espectrofotometria de proteínas totais em plasma de sangue bovino por análise em fluxo. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, p. 251-256, 2001.

MACIEL, R.P.; OLIVEIRA, R.A.; NEIVA, J.N.M.; RESTLE, J.; BILEGO, U.O.; SOUSA, L.F. Características de carcaça de bezerros mestiços leiteiros alimentados com glicerina bruta e abatidos aos 60 dias de idade In: REUNIAO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 49., 2012, Brasília. **Anais...** Brasilia: SBZ, 2012. 1 CD-ROM.

MACH, N.; BACH, A.; DEVANT, M. Effects of crude glycerin supplementation on performance and meat quality of Holstein bulls fed high-concentration diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 87, p. 632-638, 2009.

MACHADO NETO, R.; PACKER, I.U.; SUSIN, I.; NOLASCO, A.M. Proteína total sérica em bezerros da raça holandesa submetidos a diferentes regimes de aleitamento. **Anais da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**, Piracicaba, v. 43, p. 265-284, 1986.

MENTEN, J.F.M.; MIYADA, V.S.; BERENCHTEIN, B. Glicerol na alimentação animal. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 2008, Campinas. Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2008. p. 101-114.

McGRAW-HILL. **Glycerol**. Columbus: The McGraw-Hill, 2005. (McGraw-Hill Encyclopedia of Science and Technology). Disponível em: <<http://www.answers.com/topic/glycerol>>. Acesso em: 12 mar. 2011.

MURDOCK, F.R.; WALLENIS, R.W. Fiber sources for complete calf starter rations. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 63, p.1869, 1980.

NELSON, D.L.; COX, M.M. **Lehninger princípios da bioquímica**. 5. ed. São Paulo: Editora Sarvier, 2011. 1304p.

NUSSIO, C.M.B.; SANTOS, F.A.P.; ZOPOLLATTO, M.; PIRES, A.V.; MORAIS, J.B. Processamento de milho (floculado vs. laminado a vapor) e adição de monensina para bezerras leiteiras, pré e pós-desmama precoce. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, p. 229-239, 2003a.

NUSSIO, C.M.B.; SANTOS, F.A.P.; ZOPOLLATTO, M.; PIRES, A.V.; MORAIS, J.B.; FERNANDES, J.J.R. Parâmetros de fermentação e medidas morfométricas dos compartimentos ruminais de bezerros leiteiros suplementados com milho processado (Floculado vs. Laminado a vapor) e monensina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 4, p. 1021-1031, 2003b.

OWENS, F.N.; GOETSCH, A.L. Ruminal fermentation. In: CHURCH, D.C. (Ed.) **The ruminant animal: digestive physiology and nutrition**. Englewood Cliffs: Waveland Press, 1988. p. 145-171.

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

PARENTE, E.J.S. **Biodiesel: uma aventura tecnológica num país engraçado**. Fortaleza: Editora Unigráfica, 2003. 66 p.

PARKER, A.J.; DOBSON, G.P.; FITZPARTRICK L.A. Physiological and metabolic effects of prophylactic treatment with the osmolytes glycerol and betaine on *Bos indicus* steers during long duration transportation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 85, p. 2916-2923, 2007.

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

PINTO, A.C.; GUARIEIRO, L.L.N.; REZENDE, M.J.C. Biodiesel: an overview. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Sao Paulo, v. 16, p. 1313-1330, 2005.

QUIGLEY III, J.D. Effects of lasalocid in milk replacer and calf starter on growth, intake, and fecal oocyst shedding in calves challenged with *Eimeria*. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 79, suppl. 1, p. 154, 1996a.

QUIGLEY III, J.D. Feeding prior to weaning. In: CALVES, HEIFERS AND DAIRY PROFITABILITY NATIONAL CONFERENCE, Pennsylvania, 1996. **Proceedings...** Ithaca: Northeast Regional Agricultural Engineering Service Cooperative Extension, 1996b. p. 245-255.

QUIGLEY III, J.D.; BERNARD, J.K. Effects of nutrient source and time of feeding on changes in blood metabolites in young calves. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, p. 1543-1549, 1992.

QUIGLEY III, J.D.; CALDWELL, L.A.; SINKS, G.D. Changes in plasma volatile fatty acids in response to weaning and feed intake in young calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, p. 258-263, 1991.

QUIGLEY, J.D.; MARTIN, K.R.; BEMIS, D.A.; POTGIETER, L.N.D.; REINEMEYER, C.R.; ROHRBACH, B.W.; DOWLEN, H.H.; LAMAR, K.C. Effects of housing and colostrum feeding on serum immunoglobulins, growth, and fecal scores of Jersey calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 78, n. 4, p. 893-901, 1995.

RAETH-KNIGHT, M.; LINN, J.; LARSON, R.; SALZER, J. Impact of glycerol in milk replacer on dairy calf performance. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 87, E-suppl. 2, p. 451, 2009.

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

RICO, D.E.; CHUNG, Y.H.; MARTINEZ, C.M.; CASSIDY, T.; HEYLER, K.S.; VARGA, G.A. Effects of replacing starch or sugar with glycerin in diets for dairy cows on production and blood metabolites. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, E-suppl. 1, p. 87, Jan. 2009.

RIVALDI, J.D.; SARROUH, B.F.; FIORILO, R. Estratégias biotecnológicas para o aproveitamento do glicerol gerado da produção de biodiesel. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 37, p. 44-51, 2008.

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

SANDER, E.G.; WARNER, R.G.; HARRISON, H.N.; LOOSLI, J.K. The stimulatory effect of sodium butyrate and sodium propionate on the development of rumen mucosae in the young calf. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 42, n. 9, p. 1600-1605, 1959.

SAUER, F.D.; ERFLE, J.D.; FISHER, L.J. Propylene glycol and glycerol as a feed additive for lactating dairy cows: An evaluation of blood metabolite parameters. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 53, p. 265-271, 1973.

SAUER, F.D.; KRAMER, J.K.G.; CANTWELL, W.J. Antiketogenic effects of monensin in early lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 72, p. 436-442, 1989.

SCHRÖDER, A.; SÜDEKUM, K.H. Glycerol as a by-product of biodiesel production in diets for ruminants. In: NEW HORIZONS FOR AN OLD CROP. **Proceedings... Canberra: Internation Rapeseed**, Canberra, v. 10, p. 241, 1999.

SILVA, J.T.; BITTAR, C. M. M.; SILVEIRA, L. S. Desempenho e desenvolvimento ruminal em resposta ao fornecimento de substâncias húmicas para bezerros leiteiros em sistema de desaleitamento precoce. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 33, n. 4, p. 395-401, 2011.

SUÁREZ, B.J.; VAN REENEN, C.G.; STOCKHOFE, N.; DIJKSTRA, J.; GERRITS, W.J.J. Effect of roughage source and roughage to concentrate ratio on animal performance and rumen development in veal calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, p. 2390-2403, 2007.

SUÁREZ, B.J.; VAN REENEN, C.G.; BELDMAN, G.; VAN DELEN, J.; DIJKSTRA, J.; GERRITS, W.J.J. Effects of supplementing concentrates differing in carbohydrate composition in veal calf diets: I. animal performance and rumen fermentation characteristics. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, p. 4365-4375, 2006.

SUSIN, I.; MACHADO NETO, R.; PIRES, A.V.. Imunoglobulina e proteína total séricas em bezerros holandeses e mestiços. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 16, p. 588-592, 1987.

SUTTON, J.D.; MCGILLIARD, A.D.; RICHARD, M.; JACOBSON, N.L. Funcional development of rumen mucosa. II. Metabolic activity. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 46, p. 530–537, 1963.

TAMATE, H.; MCGILLIARD, A.D.; JACOBSON, N.L.; GETTY, R. Effect of various dietaries on the anatomical development of the stomach in the calf. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 45, p. 408-420, 1962.

TAO, R.C.; KELLEY, R.E.; YOSHIMURA, N.N.; BENJAMIN, F. Glycerol: its metabolism and use as an intravenous energy source. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, Silver Spring, v. 7, p. 479-488, 1983.

THEURER, C.B.; HUBER, J.T.; DELGADO-ELORDUY, A.; WANDERLEY, R. Invited review: summary of steam-flaking corn or sorghum grain for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 82, p. 1950-1959, 1999.

TOULLEC, R.; GUILLOTEAU, P. Research into the digestive physiology of the milkfed calf. In: Van WEERDON, E.J.; HUISMAN, J. **Nutrition and digestive physiology in monogastric farm animals**. Wageningen: PUDOC, 1989. p. 37-55.

TRABUE, S.; SCOGGIN, K.; TJANDRAKUSUMA, S.; REILLY, P.J. Ruminant fermentation of propylene glycol and glycerol. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v. 55, p. 7043-7051, 2007.

Van AMBURGH, M.; DRACKLEY, J.K. Current perspectives on the energy and protein requirements of the pre-weaned calf. In: GARNSWORTHY, P.C. **Calf and heifer rearing: principles of rearing the modern dairy heifer from calf to calving**. Nottingham: Nottingham University Press, 2005. chap. 5, p. 67-82.

- 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, p. 3583-3597, 1991.
- VAZQUEZ-ANON, M.; HEINRICHS, A.J.; ALDRICH, J.M.; VARGA G.A. Postweaning age effects on rumen fermentation end-products and digesta kinetics in calves weaned at 5 weeks of age. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, p. 2742-2748, 1993.
- 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.
- 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, 2009. Tirar b do texto
- WARNER, R.G.; FLATT, W.P.; LOOSLI, J.K. Dietary factors influencing the development of the ruminant stomach. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 4, p. 788-792, 1956.
- WEIGAND, E.; YOUNG J.W.; MCGILLIARD, A.D. Volatile fatty acid metabolism by rumen mucosa from cattle fed hay or grain. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 58, p. 1294-1300, 1975.
- WEISS, W.P. Predicting energy values of feeds. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, p. 1802-1811, 1993. Apresentado no SYMPOSIUM: PREVAILING CONCEPTS IN ENERGY UTILIZATION BY RUMINANTS.
- WILLIAMS, P.E.V.; FROST, A.I. Feeding the young ruminants. In: VARLEY, M.A.; WILLIAMS, P.E.V.; LAWRENCE, T.L.J. **Neonatal survival and growth**. Edinburgh: British Society of Animal Production, 1992. p. 109-118. (Occasional Publication, 15).
- YOUNG, J.W. Gluconeogenesis in cattle: significance and methodology. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 60, p. 1-15, 1977.
- ZITNAN, R.; VOIGT, J.; SCHONHUSEN, U.; WEGNER, J.; KOKARDOVA, M.; HAGEMEISTER, H.; LEVKUT, M.; KUHLA, S.; SOMMER, A. Influence of dietary concentrate to forage ratio on the development of rumen mucosa in calves. **Archives Animal Nutrition**, Montreux, v. 51, p. 279-291, 1998.