

Dinâmica metabólica de cordeiros alimentados com dietas contendo níveis crescentes de glicerina bruta em substituição ao milho

Metabolic dynamics of lambs fed diets containing increasing levels of crude glycerin to replace corn

Dinámica metabólica de corderos alimentados con dietas que contienen niveles crecientes de glicerina cruda para reemplazar el maíz

Recebido: 08/06/2020 | Revisado: 09/06/2020 | Aceito: 16/06/2020 | Publicado: 28/06/2020

Emanuel Felipe Oliveira Filho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2836-5549>

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil

E-mail: felipe130188@gmail.com

Pierre Castro Soares

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5680-3940>

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil

E-mail: pcastro.pe@gmail.com

Caio Alves da Costa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0037-2595>

Universidade Federal de Roraima, Brasil

E-mail: costa.caioalves@hotmail.com

Gilcifran Prestes de Andrade

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6347-7242>

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil

E-mail: andrade.gilcifran@gmail.com

Francisco Fernando Ramos de Carvalho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9211-0263>

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil

E-mail: ffrcarvalho@hotmail.com

Daniel Nunes de Araújo Gonçalves

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0664-1621>

UNIBRA – Centro Universitário Brasileiro, Brasil

E-mail: daniel.nagon@gmail.com

Ângela Maria Vieira Batista

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6133-2795>

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil

E-mail: angelamvbatista@gmail.com

Cleyton Charles Dantas Carvalho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1634-2083>

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil

E-mail: cleytondantas27@yahoo.com.br

Resumo

Objetivou-se avaliar os efeitos da inclusão de glicerina bruta contendo 80,5% de glicerol sobre os parâmetros sanguíneos de cordeiros em confinamento. Utilizaram-se 39 cordeiros mestiços, sem padrão de raça definido, machos não castrados, com quatro meses de idade e peso corporal inicial de 21 kg±0,8 Kg, distribuídos em blocos casualizados a quatro tratamentos e dez repetições com níveis de inclusão de 0, 6, 12 e 18% de glicerina bruta na matéria seca (MS) da dieta. Coletas de sangue foram realizadas para análise de diferentes biomarcadores no 650 dia de experimento. Não foram registrados efeitos significativos da inclusão de glicerina bruta em substituição do milho na dieta de cordeiros em relação aos diferentes biomarcadores do perfil proteico, mineral e da atividade enzimática. Quando ao perfil energético, identificou-se efeito significativo apenas para a concentração plasmática de glicose ($p=0,0003$). Na análise de regressão da concentração de glicose plasmática de cordeiros, em função do nível de consumindo de glicerina bruta associada à ureia em substituição ao milho, verificou-se que quanto maior a inclusão de glicerina bruta na dieta, maior a glicemia ($r=0,92$; $p<0001$). A quantidade crescente de glicerina bruta na dieta de cordeiros em crescimento em substituição ao milho tem caráter gliconeogênico, além de que não provoca alteração metabólica de parâmetros relacionados ao perfil energético, proteico, mineral e de atividade enzimática. A glicerina bruta pode ser fornecida até 18% por promover adequada resposta metabólica.

Palavras-chave: Biodiesel; Bioquímica clínica; Glicerol; Metabolismo; Ovinos; Subprodutos.

Abstract

The objective was to evaluate the effects of the inclusion of crude glycerin containing 80.5% glycerol on the blood parameters of lambs in confinement. 39 crossbred lambs, without a defined breed standard, non-castrated males, with four months of age and initial body weight

of 21 kg \pm 0.8 kg, were distributed in randomized blocks with four treatments and ten repetitions with levels of inclusion of 0, 6, 12 and 18% crude glycerin in the dry matter (DM) of the diet. Blood samples were taken to analyze different biomarkers on the 650 day of the experiment. There were no significant effects of the inclusion of crude glycerin to replace corn in the lambs diet in relation to the different biomarkers of the protein, mineral and enzymatic activity. Regarding the energy profile, a significant effect was identified only for the plasma glucose concentration ($p=0.0003$). In the regression analysis of the plasma glucose concentration of lambs, depending on the level of consumption of crude glycerin associated with urea to replace corn, it was found that the greater the inclusion of crude glycerin in the diet, the greater the blood glucose ($r=0,92$; $p<0001$). The increasing amount of crude glycerin in the diet of lambs growing to replace corn has a gluconeogenic character, in addition to that it does not cause metabolic alteration of parameters related to the energy, protein, mineral and enzymatic activity profile. Crude glycerin can be supplied up to 18% for promoting an adequate metabolic response.

Keywords: Biodiesel; By-products; Clinical biochemistry; Glycerol; Metabolism; Sheep.

Resumen

El objetivo fue evaluar los efectos de la inclusión de glicerina cruda que contiene 80.5% de glicerol en los parámetros sanguíneos de corderos en confinamiento. 39 corderos cruzados, sin un estándar de raza definido, machos no castrados, con cuatro meses de edad y un peso corporal inicial de 21 kg \pm 0.8 kg, se distribuyeron en bloques al azar con cuatro tratamientos y diez repeticiones con niveles de inclusión de 0, 6, 12 y 18% de glicerina cruda en la materia seca (DM) de la dieta. Se tomaron muestras de sangre para analizar diferentes biomarcadores en el día 650 del experimento. No hubo efectos significativos de la inclusión de glicerina cruda para reemplazar el maíz en la dieta del cordero en relación con los diferentes biomarcadores de la actividad proteica, mineral y enzimática. Con respecto al perfil de energía, se identificó un efecto significativo solo para la concentración de glucosa en plasma ($p=0,0003$). En el análisis de regresión de la concentración de glucosa en plasma de los corderos, dependiendo del nivel de consumo de glicerina cruda asociada con la urea para reemplazar el maíz, se encontró que cuanto mayor es la inclusión de glicerina cruda en la dieta, mayor es la glucosa en sangre ($r=0,92$; $p<0001$). La creciente cantidad de glicerina cruda en la dieta de corderos que crecen para reemplazar el maíz tiene un carácter gluconeogénico, además de que no causa alteración metabólica de los parámetros

relacionados con el perfil de actividad energética, proteica, mineral y enzimática. La glicerina cruda se puede suministrar hasta un 18% para promover una respuesta metabólica adecuada.

Palabras-clave: Biodiesel; Bioquímica clínica; Glicerol; Metabolismo; Ovejas; Subproductos.

1. Introdução

A expressão do crescimento da ovinocultura no Brasil vem ocorrendo nos últimos anos, como consequência da melhoria dos padrões genéticos, das boas práticas sanitárias, do adequado manejo alimentar e do bem-estar animal, resultando no equilíbrio produtivo adequado. Práticas adequadas de manejo alimentar são cruciais para a melhoria na produção dos ovinos, evitando o surgimento de distúrbios metabólicos (Lima et al., 2016). Dessa forma, a utilização de alimentos alternativos torna-se uma opção para diminuir os custos e incrementar a produção do rebanho, trazendo ao produtor melhor retorno financeiro.

Uma opção que tem sido alvo de muitas pesquisas é a utilização de coprodutos da indústria como componentes da dieta (Araújo et al., 2012). Entre os diversos subprodutos agroindustriais utilizados atualmente na alimentação de ruminantes, destacam-se aqueles oriundos da produção de biodiesel. A glicerina é o principal coproduto gerado na produção de biodiesel e, aproximadamente, 10 % do volume total de biodiesel produzido correspondem à glicerina (Dasari et al., 2005).

O grande interesse na utilização da glicerina bruta na alimentação animal é devido ao seu valor energético (Menten et al., 2008). Do ponto de vista nutricional, a glicerina tem surgido como uma fonte alimentar energética alternativa e promissora na alimentação animal, podendo substituir em parte, os concentrados energéticos da ração, principalmente o milho (Fávaro et al., 2015).

O glicerol é absorvido diretamente pelo epitélio ruminal, tendo seu metabolismo atribuído ao fígado e direcionando-o para a gliconeogênese, devido a atuação da enzima glicerol quinase, a qual converte em glicose. Parte deste glicerol é fermentada a propionato no rúmen, o qual é metabolizado a oxaloacetato, por meio do ciclo de Krebs, no fígado, e pode ser utilizado para formar glicose pela via gliconeogênica. Desta forma, a glicerina bruta possui um grande potencial de utilização como substrato gliconeogênico para ruminantes (Krehbiel, 2008). Com o intuito de redução nos preços, a GB, vem se destacando como opção para utilização como macro ingrediente na dieta de cordeiros em terminação, em substituição a concentrados energéticos (Kerr et al., 2009).

Além de servir como fonte de energia, o glicerol também pode ter efeitos positivos sobre a retenção de aminoácidos, inibindo a atividade das enzimas fosfoenolpiruvato carboxiquinase e glutamato desidrogenase, resultando em economia dos aminoácidos gliconeogênicos, favorecendo a deposição de proteína corporal (Cerrate et al., 2006).

A dieta influencia diretamente o consumo e a digestibilidade dos nutrientes e, como consequência imediata, o desempenho dos animais, bem como a composição corporal e da carcaça. No aspecto da análise do perfil metabólico relacionado com a energia, proteína, minerais e atividade enzimática que reflete o funcionamento de diversos órgãos, muito pouco é conhecido a respeito da inclusão de GB na dieta de cordeiros em crescimento, em substituição de alguma fonte de energia, como o milho.

Até o presente momento há dois artigos desenvolvidos caracterizando o comportamento de alguns biomarcadores do perfil metabólico em caprinos recebendo dietas com GB (Chanjula, 2014) e (Andrade et al., 2018), tendo uma grande maioria dos trabalhos voltados aos parâmetros de desempenho animal e características de carcaça, faltando estudos que reportem a resposta metabólica em ovinos.

Sendo assim, objetivou-se avaliar a resposta metabólica de cordeiros alimentados com níveis crescentes de glicerina bruta em substituição ao milho, sobre as características nos perfis energético, enzimático, proteico e mineral.

2. Metodologia

O presente trabalho é apresentado na forma de pesquisa à campo com metodologia quantitativa sobre a resposta metabólica frente a utilização da glicerina em substituição ao milho na alimentação de cordeiros, seguindo as diretrizes instituídas por Pereira et al. (2018).

2.1. Coleta de dados

O experimento foi executado no Setor de caprinos e ovinos da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), localizado no município de Recife, Pernambuco, e situado sob as coordenadas geográficas de 8°04'03''S e 34°55'00''W. O experimento teve licença de comissão de bioética com número 059/16 (Animal Use Ethic Committee in Research (CEUA-UFRPE)). Foram utilizados 39 cordeiros machos, não castrados, sem padrão racial definido (SPRD), com quatro meses de idade e peso corporal médio inicial de 21,0±0,8 kg, alojados

em galpão desinfetado constituído de baias individuais, com dimensões de 1,0m x 1,8m, providos de bebedouros e comedouros individuais.

Antes do período de adaptação às dietas experimentais todos os animais foram identificados com brincos e submetidos à coleta de fezes para análise parasitológica, pela contagem de ovos por grama (OPG) e realização do controle de ecto e endoparasitos com uso de ivermectina. Os animais também foram imunizados contra clostridioses, suplementados com composto vitamínico ADE e tratados com quimioterápico a base de sulfonamida, como medida profilática contra coccidioses no período de adaptação.

2.2. Obtenção da glicerina

Dois dias após a chegada ao galpão, os animais foram submetidos a jejum de 16 horas, pesados e distribuídos casualmente em quatro tratamentos, com dez repetições cada, para serem adaptados aos níveis de 0; 6; 12; e 18 % de inclusão de glicerina bruta, em substituição ao milho, na dieta. A glicerina bruta (Imagem 2) foi obtida da produção de biodiesel a partir do óleo do caroço de algodão na Unidade de Bioenergia do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE), no município de Caetés, Pernambuco, e sua composição físico-química é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Composição físico-química da glicerina bruta.

Item	g/Kg ⁻¹ MS
Matéria Seca (g/Kg ⁻¹ MN)	899,0
Glicerol	805,0
Extrato Etéreo	435,0
Proteína Bruta	16,0
Matéria Mineral	111,0
Na	53,0
Metanol	382,0
Densidade (g/cm ³)	0,97

Fonte: Autores.

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados com período experimental de 90 dias, sendo os 24 primeiros destinados à adaptação dos animais às instalações, às dietas e ao manejo, e os 66 seguintes para coleta e avaliação de amostras e

dados. A glicerina bruta foi misturada ao concentrado a fim de homogeneizar os ingredientes e as dietas fornecidas aos animais foram formuladas para serem isoproteicas, de forma a atender as exigências nutricionais de um cordeiro em crescimento, visando ganho médio diário de 0,250 kg, de acordo com as recomendações nutricionais do NRC (2007), conforme Tabela 2.

As dietas foram fornecidas na forma de mistura completa em comedouros individuais duas vezes ao dia, às 08h00 e às 16h00. Para estimar o consumo voluntário, as sobras foram recolhidas e pesadas antes de cada arraçoamento; em seguida, o consumo foi mensurado pela diferença entre a oferta de ração e sobra de cada animal. A quantidade fornecida foi ajustada a cada dois dias, baseada na ingestão voluntária do animal com estimativa de sobras de 10 %. Foram coletadas semanalmente amostras das dietas fornecidas e das sobras por animal e tratamento, bem como dos alimentos utilizados para formular as dietas, para posterior análise de controle bromatológico das dietas.

Tabela 2. Composição percentual dos ingredientes e composição química das dietas.

Ingredientes (%)	Níveis de Glicerina Bruta (%)			
	0	6	12	18
Feno de Tifton	40,00	40,00	40,00	40,00
Milho em Grão	40,35	34,10	27,85	21,60
Farelo de Soja	17,00	17,00	17,00	17,00
Glicerina Bruta	0,00	6,00	12,00	18,00
Ureia:AS*	0,50	0,75	1,00	1,25
Suplemento Mineral ¹	1,50	1,50	1,50	1,50
Calcário Calcífico	0,30	0,30	0,30	0,30
Fosfato Bicálcico	0,35	0,35	0,35	0,35
Composição Química (g.kg⁻¹ MS)				
Matéria Seca (g.kg ⁻¹ MN)	890,1	891,4	893,9	892,0
Matéria Orgânica	965,7	958,2	957,0	955,0
Matéria Mineral	47,8	52,9	55,4	56,0
Proteína Bruta	153,4	153,7	154,3	155,1
Extrato Etéreo	39,5	40,6	41,7	42,4
Fibra em Detergente Neutro ²	488,7	474,9	467,5	458,3
Carboidratos Não Fibrosos	290,8	286,0	283,5	279,2
Nutrientes Digestíveis Totais ³	689,0	694,3	694,5	689,8

¹Níveis de garantia (nutrientes/kg): Cálcio-150g; Enxofre-12g; Fósforo-65g; Magnésio-6.000mg; Sódio-107g; Cobre-100mg; Cobalto-175mg; Ferro-1000mg; Flúor máximo-650mg; Iodo-175mg; Manganês-1440mg; Selênio-27mg e Zinco-6000mg. ²Fibra em Detergente Neutro foi corrigida para cinzas e proteínas. ³Estimado em ensaio de digestibilidade. *9 partes de ureia e 1 parte de sulfato de amônio (SA). Fonte: Autores

Na Tabela 2, estão descritos os constituintes da dieta dos animais em porcentagem e sua composição química, além das suas concentrações nos grupos de inclusão da glicerina em 0, 6, 12 e 18%.

2.3. Colheita das amostras

A fim de avaliar o status energético e proteico, além do perfil enzimático e mineral dos animais, foram realizadas colheitas de sangue no 65^o dias do experimento, sendo coletado aproximadamente 10,0 ml de amostras de sangue, 5 horas após fornecimento das dietas, por punção da veia jugular em tubos vacutainers®, alguns contendo fluoreto de sódio e EDTA a

10% e outros sem anticoagulante com gel ativador da coagulação. As amostras com anticoagulante foram centrifugadas imediatamente após a colheita a 2.500 rpm para obtenção do plasma, enquanto aquelas sem anticoagulante foram acondicionadas em caixa de isopor contendo gelo sintético por um período de 50 minutos antes de serem centrifugadas a 2.500 rpm para obtenção do soro. As alíquotas de soro e plasma foram colocadas em tubos eppendorf® e armazenadas a temperatura de -20°C até às dosagens dos indicadores bioquímicos.

2.4. Análises laboratoriais

Os biomarcadores avaliados foram: ureia, creatinina, ácido úrico, proteína total, albumina, globulina, glicose, frutossamina, colesterol, triglicerídeo, lactato, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gamaglutaminotransferase (GGT), fosfatase alcalina (FA), cálcio, fósforo e magnésio. A concentração de globulina foi determinada pela diferença entre as concentrações séricas de proteína total e albumina. As determinações bioquímicas foram realizadas em analisador bioquímico automatizado LABMAX 240 (LABTEST®), utilizando-se kits bioquímicos LABTEST®.

2.5. Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com quatro tratamentos e dez repetições, sendo o peso inicial dos animais o critério para formação dos blocos. As variáveis estudadas foram interpretadas por meio de análises de variância e regressão em função dos níveis de inclusão de glicerina bruta, ao nível de significância de 5%, utilizando-se o procedimento estatístico GLM do pacote computacional SAS (2009) e as médias foram comparadas aplicando-se o teste Tukey ($P < 0,05$). Os tratamentos foram analisados segundo o modelo estatístico: $Y_{ijk} = m + A_i + e_{ij}$, onde: Y_{ij} = é a observação j , referente à glicerina i ; m = é a constante geral; A_i = é o efeito do nível de inclusão da glicerina i , $i = 0, 6, 12$ e 18% ; e_{ijk} = erro aleatório associado a cada observação Y_{ijk} .

3. Resultados e Discussão

Não foram registrados efeitos significativos da inclusão de glicerina bruta em substituição do milho na dieta de cordeiros em relação aos diferentes biomarcadores do perfil

proteico (Tabela 3), mineral e da atividade enzimática (Tabela 4). Quanto ao perfil energético, identificou-se efeito significativo para a concentração plasmática de glicose ($p=0,0003$). Na análise de regressão da concentração de glicose plasmática de cordeiros, em função do nível de consumindo de glicerina bruta associada à ureia em substituição ao milho, verificou-se que quanto maior a inclusão de glicerina bruta na dieta, maior a glicemia ($r=0,92$; $p<0001$) (Figura 1). Aos demais biomarcadores do perfil energético, não foram registrados efeitos, com nível de significância variando de $p=0,6976$ para triglicerídeos (Tabela 3).

3.1. Perfil Proteico e Energético

No perfil proteico a ureia, ácido úrico, proteína total, albumina e globulina não foram influenciadas à medida que se substituiu milho por glicerina bruta ($P>0,05$), além de que os valores se mantiveram dentro dos valores de referência para a espécie (Kaneko et al., 2008). Evidenciando, assim, que a utilização da GB não acarreta efeitos deletérios a nível hepático e em outros órgãos, não causa modificações na utilização dos nutrientes pelos microrganismos no rúmen e proteína microbiana ou dietética, além de não alterar a disponibilidade de aminoácidos na síntese proteica (Wittwer, 2000). Avaliando os dados de consumo de proteína bruta destes animais (Andrade et al., 2018), e o perfil dos marcadores do perfil proteico, apresentou efeito quadrático ($P<0,05$), onde pode ser observado aumento no consumo de proteína bruta até o nível de 10,8% para estimativa de consumo máximo de 241,55 g/dia, que pode ser explicado pelo aumento do CMS até o nível 10,9% de substituição, já que as dietas foram isoproteicas.

Considerando a resposta metabólica destes animais, os dados aqui apresentados estão coincidentes com o que relatou Andrade et al. (2018), em que o glicerol pode ter fornecido energia suficiente aos micro-organismos ruminais para degradação de fontes nitrogenadas, bem como aproveitamento deste nitrogênio para a síntese de proteína microbiana. Kozloski (2011) afirma que entre 60 a 95% dos compostos nitrogenados que são digeridos no abomaso e absorvidos no intestino delgado são oriundos da proteína microbiana formada no rúmen, que só é possível de ser produzida quando houver disponibilidade de energia aos micro-organismos. Os micro-organismos do rumem destes animais utilizaram efetivamente boa parte do nitrogênio disponível no rúmen para a síntese proteica microbiana, já que a concentração de ureia no sangue sinalizou normalidade do fígado. Sabe-se que a concentração sanguínea de ureia reflete diretamente o aporte proteico na ração, a relação energia-proteína da dieta, bem como é resultado da absorção de amônia do rúmen e do metabolismo proteico

nos tecidos do animal (Araújo et al., 2012).

As concentrações séricas de creatinina mantiveram baixas. Considerando que a excreção de creatinina é realizada unicamente pela via renal, uma vez que não é reabsorvida nem reaproveitada pelo organismo animal, os valores diminuídos desta variável podem ser considerados como um indicativo de aumento na taxa de filtração renal, como consequência da ingestão de água, o que pode ter sido influenciado por algum componente da dieta ofertada, como a própria glicerina. Sua excreção pode ser considerada um indicador mais específico de lesão renal (Schutte et al., 1981 e González et al., 2000), fato não ocorrido no presente estudo. Além disso, González et al. (2000) ainda relatam que a creatinina mesmo não sendo afetada pelo catabolismo das proteínas tissulares e da dieta, sua concentração pode sofrer diminuições em situações de mobilização das reservas endógenas do organismo.

No perfil energético, os níveis glicêmicos facultam a compreensão de que ocorreu efetiva fermentação no ambiente ruminal para a melhor produção de propionato, com a inclusão de GB, refletindo na produção de glicose no fígado dos cordeiros que consumiram GB. Segundo Krehbiel (2008), a GB é um coproduto com elevado potencial de aplicação gliconeogênico para ruminantes, pois o glicerol tem sua absorção pelo epitélio ruminal e é metabolizado no fígado, sendo direcionado para a gliconeogênese através da enzima glicerol quinase, tendo como resultado a conversão em glicose. Além disso, a porção do glicerol não absorvida pode sofrer fermentação e gerar o propionato no rúmen, sendo metabolizado e transformado em oxaloacetato pelo ciclo de Krebs no fígado, podendo formar a glicose pela via gliconeogênica. Este estudo comprova a glicerina como precursor gliconeogênico através do efeito linear que a glicose revelou (Figura 1), demonstrando que quanto maior o nível de participação da glicerina na dieta de cordeiros, maior será a gliconeogênese. Da produção total de glicose, cerca de 90% é de origem na gliconeogênese hepática, e segundo Kozloski (2011), há uma alta correlação entre consumo de energia digestível da dieta, absorção de propionato e síntese gliconeogênica no fígado.

Andrade et al. (2018) ao avaliarem o efeito da inclusão da glicerina em cordeiros, observaram diferenças estatísticas para os níveis séricos de glicose. Segundo os autores, este fato está ligado a uma maior ingestão de NDT e energia pelos animais, além de uma maior conversão de glicerol em glicose. Isto é explicado pela conversão a nível hepático de uma grande quantidade de glicerol pela enzima glicerol quinase, obtenção do glicerol-3-fosfato e direcionamento a gliconeogênese (Rojek et al., 2008). Outras pesquisas já foram desenvolvidas no Brasil com a utilização da glicerina principalmente com o foco de validar o seu uso na alimentação animal. Porém uma grande parte dos trabalhos realizados foram

direcionados à ingestão, digestibilidade e desempenho animal, obtendo resultados variados (Lage et al., 2010; Gunn et al., 2010; Gomes et al., 2011; Van Cleef et al., 2018).

Tabela 3. Valores médios, desvios-padrão e nível de significância (*p*) de parâmetros bioquímicos do sangue de cordeiros consumindo dietas contendo glicerina bruta associada à ureia em substituição ao milho.

Parâmetros	Níveis de glicerina bruta (% da MS)				P-valor		Valores de Referência
	0	6	12	18	Linear	Quadrático	
	Perfil Proteico						
Ureia (mmol/L)	3,15±0,30	2,92±0,54	3,04±0,59	2,91±0,02	0,6033	0,7612	2,86 – 7,14 ¹
Creatinina (µmol/L)	42,71±17,54	38,13±6,10	33,55±11,44	38,13±6,10	0,1657	0,2212	106,0 – 168,0 ¹
Ácido úrico (mmol/L)	3,57±1,19	2,38±1,19	2,38±1,78	1,78±0,59	0,2177	0,3481	0,0 – 113,0 ¹
Proteína Total (g/L)	73,7±9,9	74,7±6,2	76,8±10,7	73,4±8,0	0,4450	0,4410	60 - 79 ¹
Albumina (g/L)	29,1±3,7	29,5±2,2	29,7±4,1	29,3±3,1	0,6561	0,6807	24 – 30,0 ¹
Globulina (g/L)	44,7±6,9	45,2±4,9	47,1±6,9	44,1±5,5	0,3905	0,3752	35 - 57 ¹
Perfil Energético							
Glicose (mmol/L)	2,42±0,38	3,27±0,98	3,16±0,69	3,88±0,75	0,0039	0,8402	2,78-4,44 ¹
Frutosamina (µmol/L)	181,33±16,46	179,91±10,94	183,81±19,58	176,16±14,48	0,6497	0,5299	172,0±2,0 ²
Colesterol (mg/dL)	1,51±0,33	1,60±0,30	1,59±0,37	1,67±0,24	0,7144	0,9453	1,35 – 1,97 ¹
Triglicerídeos (mg/dl)	0,20±0,06	0,19±0,05	0,22±0,07	0,19±0,03	0,6976	0,7010	0,10 – 0,34 ¹
Lactato (mmol/L)	4,17±1,17	5,45±1,80	5,11±1,39	5,31±1,20	0,1471	0,2803	1,0 – 1,33 ¹

¹Kaneko et al. (2008); ²Cantley (1991)

Fonte: Autores.

Na Tabela 3 estão descritas as informações sobre a resposta metabólica a nível proteico e energético, evidenciando cada marcador e seus resultados nas concentrações de cada grupo, os valores de referência para a espécie, além do resultado estatístico.

Com o intuito da avaliação dos indicadores bioquímicos sanguíneos em resposta ao uso da glicerina na alimentação animal, foram relatados os achados por Andrade et al. (2018) em cordeiros e Santos et al. (2018) em cabras leiteiras, os quais evidenciam o aumento significativo da glicose no soro sanguíneo animal sem comprometimento metabólico.

Resultados semelhantes a este trabalho foram descritos por Chung et al. (2007), onde observaram que a inclusão de glicerina proporcionou maiores teores de glicose circulantes no plasma sanguíneo das vacas que receberam glicerina comparado às que não receberam. Wang et al. (2009) obtiveram resultados similares adicionando glicerol à dieta de vacas com 4 a 63 dias em lactação, sendo verificado maiores concentrações de glicose no plasma, com balanço energético positivo, sendo observado também menor perda de peso dos animais alimentados com glicerol.

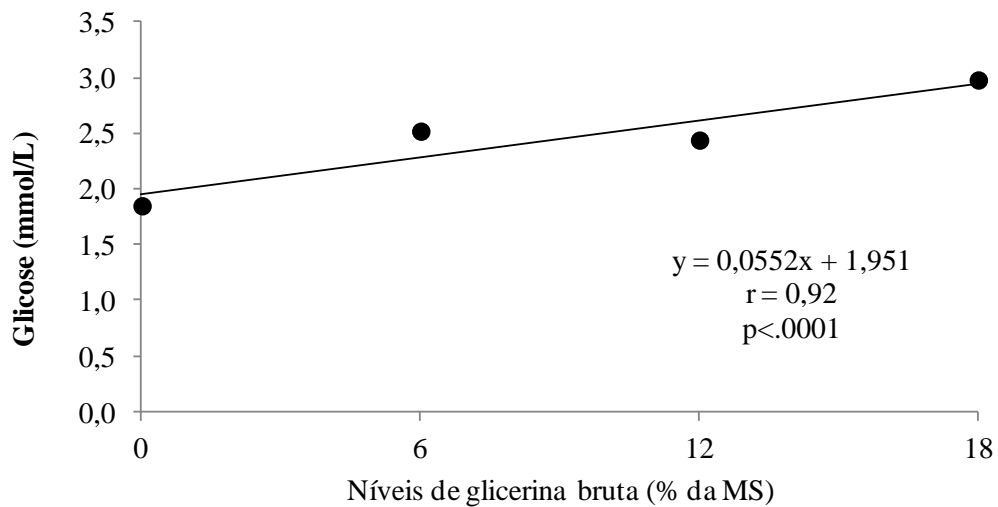
Gunn et al. (2010) avaliaram a inclusão de 15, 30 ou 45% de glicerina com 89,5% de

glicerol, na dieta de cordeiros e observaram que as concentrações séricas de glicose e insulina diminuíram com a inclusão de glicerina, podendo estar associado com a menor ingestão de matéria seca conforme a glicerina foi acrescentada na dieta. Outra possível explicação é que a diminuição das concentrações de amido nas dietas com maior teor de glicerina pode ter afetado a taxa de passagem, o que resulta em menor fermentação ruminal e maior absorção no intestino delgado. Em relação aos dados destes autores, houve um diferencial nos níveis de oferta de GB, quando neste estudo o menor nível foi de 15% de GB, e este nível foi limitante para o consumo de nutrientes apresentando uma resposta metabólica inferior aos dados no presente estudo.

Defrain et al. (2004), em seu estudo sobre o efeito do glicerol em vacas leiteiras, observaram que não houve diferenças no período pré-parto quanto aos níveis de glicose, insulina e AGNE's. Porém no pós-parto, foram verificados menores teores de glicose, quando o glicerol for incluído como fonte exclusiva na alimentação, tornando assim desfavorável seu uso. Porém, segundo Chung et al. (2007), maiores pesquisas são necessárias para elucidar melhor este mecanismo, já que a utilização da glicerina tende a gerar um índice glicêmico maior.

Os valores de frutossamina se apresentaram acima dos valores de referência, fato que pode ser relacionado ao aumento da glicose, já que os níveis de albumina estão dentro dos valores de referência (Kaneko et al., 2008). Este fato pode ser justificado já que a frutossamina por ser formada na reação não enzimática da glicose com grupos amins das proteínas (albumina e IgG), além de ser uma cetoamina estável, sua concentração sérica é controlada pelo balanço entre síntese e eliminação de compostos proteicos e de glicose (Filipovic et al., 2011).

Figura 1. Representação gráfica da análise de regressão da concentração de glicose plasmática de cordeiros, em função do nível de consumo de glicerina bruta associada à ureia em substituição ao milho.



Fonte: Autores.

Segundo Fernandes et al. (2012), as concentrações de colesterol podem se elevar caso ocorra uma mobilização de reservas lipídicas ocasionadas em situação de déficit energético, o presente estudo sugere que este fato não ocorreu, já que as concentrações séricas do colesterol se encontram dentro dos valores de referência (Kaneko et al., 2008).

O fígado tem a capacidade de sintetizar apenas cerca de 15% de triglicerídeos, sendo a sua maior produção a nível de tecido adiposo. O presente estudo constatou que a glicerina não interferiu nas concentrações e síntese de triglicerídeos, já que estes compostos estão dentro dos valores de referência (Kaneko et al., 2008). A condição adequada dos parâmetros para avaliar o perfil energético neste experimento está relacionada com os dados de consumo de nutrientes, digestibilidade e desempenho destes animais, em que Andrade et al., (2018) verificou haver influência da respectiva dieta no consumo de matéria seca, sugerindo que o glicerol aumentou a eficiência de utilização de energia da dieta pelos micro-organismos no rúmen e organismo animal, e que inclusão até 18% de glicerina bruta parece não ter causado danos ou modificações severas no ambiente ruminal ao ponto de prejudicar o consumo dos animais (Andrade et al., 2018).

Dias et al. (2016), avaliaram os efeitos da inclusão da glicerina em substituição ao milho nos tratamentos de 0, 5, 10 e 15% da glicerina contendo 87% de glicerol no consumo, conversão alimentar, desempenho e características de carcaça em 20 cabritos mestiços Boer não castrados, sendo observado que a inclusão de até 15% de glicerina na dieta de cabritos,

não afeta ($P > 0,05$) a conversão alimentar e o desempenho, porém compromete o consumo e o peso da carcaça dos animais. Segundo os autores, com a inclusão gradativa da glicerina, o concentrado foi tornando-o menos aceitável, reduzindo o seu consumo. Segundo Jesus et al. (2010), esta redução de consumo pode ser associada com o teor de energia na dieta e sua aceitação, sendo estes fatores envolvidos diretamente na regulação do consumo dos ruminantes. Outros autores como Lage et al. (2010), ainda relacionam que a diminuição do consumo de MS está diretamente ligada a produção do propionato no rúmen, seu metabolismo e o possível aumento do propionato a partir do glicerol, gerando um aumento no fígado, podendo contribuir com a saciedade e menor ingestão de MS.

Em estudo realizado com cabras, Chanjula et al. (2014) avaliaram os efeitos da suplementação dietética com glicerina na digestibilidade de nutrientes, fermentação ruminal, metabolitos sanguíneos e balanço de nitrogênio, verificaram que a média de glicemia e as concentrações de volume globular não foram afetadas ($p > 0,05$) pelos tratamentos dietéticos, enquanto que a concentração sérica de insulina aumentou linearmente ($p = 0,002$) com o aumento da quantidade de suplementação de glicerina bruta. Neste artigo, verifica-se que, embora não tenha havido influência da inclusão de GB, os dados revelam aumento nas médias da concentração plasmática de glicose conforme foi registrado neste estudo. Com base no estudo de Chanjula et al. (2014), os níveis de glicose até 20% em ração total podem ser eficientemente utilizados para cabras e este estudo elucida uma boa abordagem para explorar o uso da produção de biodiesel para a produção de cabra.

As concentrações sanguíneas de lactato estavam acima do valor de referência para a espécie. De acordo com Ogilvie (2000), os carboidratos solúveis presentes nas dietas, principalmente em grãos moídos como trigo, cevada e milho são altamente fermentáveis, e o consumo exagerado gera uma grande quantidade de ácido láctico no rúmen. Os constituintes da dieta podem ter facultado rápida e fácil digestibilidade por parte da microbiota ruminal e, conseqüentemente, maior produção deste metabólito. Importante considerar que os animais não apresentaram modificação do aspecto clínico que pudesse relacionar com transtorno digestivo típico de quadro clínico de acidose láctica ruminal e/ou metabólica, tendo, provavelmente uma efetiva ação dos tampões (Calsamiglia et al., 2012). A presença do milho pode ter influenciado nas concentrações de lactato sanguínea, já que o acúmulo de ácido láctico no rúmen pode ser relacionado com modificações na dieta. Segundo Bevans et al. (2005), uma má adaptação às dietas pode gerar desequilíbrios entre as populações de bactérias celulolíticas e amilolíticas, alterando a microbiota do rúmen e fermentando os açúcares em maior quantidade em decorrência da elevação da população de *Streptococcus bovis*, este

processo aumenta a produção de ácido láctico no rúmen. Concomitantemente, há uma redução na quantidade de microrganismos consumidores de ácido láctico, tais como *Megasphaera elsdenii* e *Selenomonas ruminantium* (Strobel e Russel, 1986).

3.2. Perfil Enzimático

Não foi influenciado com a substituição do milho pela glicerina bruta ($P > 0,05$), embora tenha sido observada menor atividade da ALT e aumento da atividade da GGT, evidenciando uma maior participação hepática no metabolismo do organismo, já que a glicerina fornecida é altamente energética. Porém este aumento não provocou efeito em função dos diferentes níveis de GB na dieta, evidenciando o adequado funcionamento do fígado, mesmo para os animais que receberam maior nível de GB. Segundo González et al. (2000), as enzimas são consideradas biomarcadores sanguíneos importantes na avaliação de distúrbios metabólicos, funcionamento hepático, alterações ósseas e desequilíbrio na relação Ca:P, fato não evidenciado no presente estudo.

3.3. Perfil Mineral

Não sofreu influência da inclusão de GB na dieta, embora seja possível constatar que a concentração de Ca estava inferior aos valores de referência para a espécie ovina, apresentando o menor valor no grupo 6%. É importante considerar o comportamento do Ca em cordeiros recebendo dietas com GB, uma vez que o Ca pode sofrer uma maior utilização e absorção pelo organismo, haja vista que a homeostase do Ca pode ter relação direta com o maior consumo de Ca pela dieta, mas também pode estar relacionado a interferência de componentes que sejam capazes de antagonizá-lo, tornando-o indisponível (González, 2006).

O P se encontrava acima dos valores de referência para espécie em todos os grupos, apresentando o maior valor no grupo 6% de inclusão de GB. O P é um elemento importante no metabolismo celular, tendo a participação direta em alguns mecanismos no metabolismo energético, carboidratos, lipídios, proteínas e ácidos nucleicos. Os resultados encontrados sugerem que a utilização da glicerina aumenta a concentração de fósforo pela atuação do elemento nos mecanismos bioquímicos energéticos (Bacila, 2003). Os níveis de P séricos são mais altos em animais em fase de crescimento do que em adultos, pela rápida mobilização do tecido ósseo, o que foi comprovado no presente estudo, pois os animais tinham em média quatro meses de idade, o que corrobora com a literatura (Kaneko et al., 2008). Além disso, a

alteração nos níveis do P pode ser explicada segundo González (2000), pois grandes quantidades de fósforo são recicladas não só pela saliva, mas também pela absorção a nível de rúmen e intestino, o que leva a ocorrência de variações nos níveis deste mineral no metabolismo animal.

O menor valor de P ($2,75 \pm 0,65$ mmol/L) ao nível de inclusão de GB em 18% pode ser justificado pelo aumento da oferta energética, além da participação deste elemento no metabolismo energético, uma vez que, o aumento no consumo de substratos energéticos, aumentará a quantidade de fósforo gasto no espaço intracelular, reduzindo sua concentração no plasma (Ribeiro et al., 2003).

Constatou-se o menor valor na relação do Ca:P ao nível de inclusão de GB de 6%, e esta relação pode apresentar variação como no presente trabalho pela diminuição do Ca e elevação do P, diminuindo a relação fisiológica dos minerais. González et al. (2000) e Goff (2014) afirmam que, mesmo com a atuação do controle endócrino sobre as concentrações de Ca, não há um mecanismo de controle semelhante para o P e Mg, necessitando a suplementação pela alimentação e suplementação mineral e/ou quantidade do mineral ingerido na dieta. Neste trabalho pode-se inferir que as concentrações em maior quantidade de P, diminuiu a relação Ca:P, já que o Ca está abaixo dos valores de referência, outro fato que pode ter contribuído para tal diminuição é o excesso de Mg (Rosol & Capen, 1997).

As concentrações séricas de Mg não apresentaram variação estatística, entretanto, em todos os níveis do experimento foram observadas concentrações do elemento superior ao valor de referência para ovinos, sendo o maior valor apresentado no grupo 0%. Este fato sugere que o fornecimento de Mg estava acima do ideal dietético para espécie, fato explicado por González et al. (2000) ao afirmar que a concentração sanguínea de Mg reflete diretamente o nível do elemento na dieta e que não existe controle homeostático do magnésio bem definido. A manutenção da concentração sérica de Mg no organismo animais de acordo com Rosol e Capen (1997), depende do equilíbrio entre a absorção intestinal e a sua excreção renal, além da regulação desempenhada pelas glândulas adrenais, tireoide e paratireoide.

Na Tabela 4 estão descritas as informações sobre a resposta metabólica a nível enzimático e mineral, evidenciando cada marcador e seus resultados nas concentrações de cada grupo, os valores de referência para a espécie, além do resultado estatístico.

Tabela 4. Valores médios, desvios-padrão e nível de significância (p) de parâmetros de atividade enzimática e perfil mineral do sangue de cordeiros consumindo dietas contendo glicerina bruta associada à ureia em substituição ao milho.

Parâmetros	Níveis de glicerina bruta (%MS)				P-valor		Valores de Referência
	0	6	12	18	Linear	Quadrático	
Atividade Enzimática							
ALT (U/L)	17,41±5,09	16,33±3,77	13,17±3,91	12,88±4,66	0,3007	0,7549	30,0±4,0 ¹
AST (U/L)	138,67±31,08	141,43±20,05	149,28±21,73	153,43±36,12	0,7767	0,9450	60-280 ¹
GGT (U/L)	75,84±13,57	66,89±10,35	79,83±10,51	72,64±8,98	0,8910	0,8214	20-52 ¹
FA (U/L)	438,51±224,71	361,61±98,47	282,31±79,43	287,37±94,90	0,1231	0,4005	68-387 ¹
Perfil Mineral							
Ca (mmol/L)	1,83±0,24	1,56±0,38	1,82±0,33	1,61±0,43	0,6272	0,7594	2,88-3,20 ¹
P (mmol/L)	2,97±0,55	3,14±0,66	3,11±0,67	2,75±0,65	0,4219	0,2004	1,62 -2,36 ¹
Ca:P (mmol/L)	0,63±0,11	0,52±0,17	0,60±0,13	0,60±0,15	0,3003	0,2748	1:4-1:6 ²
Mg (mmol/L)	1,34±0,25	1,19±0,24	1,24±0,22	1,13±0,17	0,4933	0,8199	0,31-0,90 ¹

Kaneko et al. (2008); Barioni et al (2001).
 Fonte: Autores.

4. Conclusão

Mesmo diante do perfil mineral observado neste experimento, os níveis de GB ofertados não foram suficientes para desencadear síndromes metabólicas graves, uma vez que o desempenho animal não foi comprometido. Com isso o seu uso é indicado como componente na dieta de cordeiros em substituição a outras fontes energéticas.

As concentrações plasmáticas de glicose sofrem influência linear positiva pela quantidade crescente de glicerina bruta na dieta de cordeiros em crescimento em substituição ao milho, sendo, portanto com ação gliconeogênica, além de que a inclusão de glicerina na dieta não provoca alteração metabólica de demais parâmetros relacionados ao perfil energético, proteico, mineral e de atividade enzimática. A glicerina bruta (80,5% de glicerol) pode ser fornecida até 18% por promover adequada resposta metabólica.

Assim, outras pesquisas com a utilização da glicerina em níveis superiores a 20% são importantes, a fim de embasar a utilização deste subproduto, mas principalmente ter resultados sobre a sua resposta metabólica no organismo com o objetivo de consolidação da glicerina como um constituinte na elaboração de rações para diferentes espécies animais.

Agradecimentos

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela concessão da bolsa e aquisição de equipamento bioquímico automatizado LABMAX 240 por meio de aprovação de Projeto Pró-Equipamento/CAPES/UFRPE. Ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela experimentação e processamento das amostras de composição físico-química das dietas.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse com relação à pesquisa, publicação ou autoria deste artigo.

Referências

- Andrade, G. P., Carvalho, F. F. R., Batista, Â. M. V., Pessoa, R. A. S., Costa, C. A., Cardoso, D. B., & Maciel, M. V. (2018). Evaluation of crude glycerin as a partial substitute of corn grain in growing diets for lambs. *Small Ruminant Research*, 165: 41–7.
- Araújo, P. B., Andrade, R. P. X., Ferreira, M. A., Batista, A. M. V., Carvalho, C. C. D., & Soares, P. C. (2012). Efeito da substituição do feno de capim Tifton (*Cynodon* spp) por casca de mamona (*Ricinus communis*) em dietas a base de palma forrageira (*Nopalea cochenilifera* Salm Dick) sobre o metabolismo energético, proteico e mineral em ovinos. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 34(4):327-35.
- Bacila, M. (2003). *Bioquímica Veterinária*, 2 Ed.; ROBE: São Paulo. 583p. ISBN: 9788573630237.
- Bevans, D. W., Beauchemin, K. A., Schwartzkopf-Genswein, K. S., Mckinnon, J. J., & Mcallister, T. A. (2005). Effect of rapid or gradual adaptation on subacute acidosis and feed intake by feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, 83(5):1116-1132.
- Calsamiglia, S., Blanch, M., Ferret, A., & Moya, D. (2012). Is subacute ruminal acidosis a pH related problem? Causes and tools for its control. *Animal Feed Science and Technology*,

172(1-2):42-50.

Cerrate, S., Yan, F., Wang, C., Coto, C., Sacakli, P., & Waldroup, P. W. (2006). Evaluation of glycerine from biodiesel production as a feed ingredient for broilers. *International Journal of Poultry Science*, 5(11):1001-1007.

Chanjula, P., Pakdeechanuan, P., & Wattanasit, S. (2014). Effects of Dietary Crude Glycerin Supplementation on Nutrient Digestibility, Ruminal Fermentation, Blood Metabolites, and Nitrogen Balance of Goats. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 27(3):365-374.

Chung, Y. H., Rico, D. E., Martinez, C. M., Cassidy, T. W., Noirot, V., Ames, A., & Varga, G. A. (2007). Effect of feeding dry glycerin to early postpartum Holstein dairy cows on milk production and metabolic profiles. *Journal of Dairy Science*, 90(12):5682-5691.

Coles, E. H. (1986). *Veterinary Clinical Pathology*, 4 Ed.; W.B. Saunders: Philadelphia. 486p.

Dasari, M. A., Kiatsimkul, P. P., Sutterlin, W. R., & Suppes, G. J. (2005). Low-pressure hydrogenolysis of glycerol to propylene glycol. *Applied Catalysis A: General*, 281(1):225-231.

Defrain, J. M., Hippen, R., Kalscheur, K. F., & Jardon, P. W. (2004). Feeding glycerol to transition dairy cows: effects on blood metabolites and lactation performance. *Journal of Dairy Science*, 87(12):4195–4206.

Dias, J. C., Silveira, A. L. F., Lançanova, J. A. C., Hill, J. A. G., & Moletta, J. L. (2016). Crude glycerin in meat goat diets: intake, performance and carcass traits. *Ciência Rural*, 46(4):719-724.

Favaro, V. R., Ezequiel, J. M. B., Daurea, A. P., Van Cleef, E. H. C. B., Sancanari, J. B. D., Santos, V. C., & Homem Junior, A. C. (2015). Glycerin in cattle feed: intake, digestibility, and ruminal and blood parameters. *Semina. Ciências Agrárias*, 36(3):1495-1506.

Fernandes, S. R., Monteiro, A. L. G., Dittrich, R. L., Salgado, J. A., Silva, C. J. A. D., Silva,

M. G. B. D., Beltrame, O. C., & Pinto, P. H. N. (2012). Early weaning and concentrate supplementation on the performance and metabolic profile of grazing lambs. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41(5):1292-1300.

Filipovi'c, N., Stojevic, Z., Masek, T., Mikulec, Z., & Prvanovic, N. (2011). Relationship between fructosamine with serum protein, albumin and glucose concentration in dairy ewes. *Small Ruminant Research*, 96(1):46-48.

Goff, J. P. (2014). Calcium and magnesium disorders. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 30(2): 359-381.

Gonzalez, F. H. D., Barcellos, J., Patiño, H. O., & Ribeiro, L. A. (2000). *Perfil metabólico em ruminantes. Seu uso em nutrição e doenças nutricionais*. Porto Alegre: UFRGS, 108p.

Gonzalez, F. H. D., & Silva, S. C. (2017). *Introdução à bioquímica clínica veterinária*. 3 Ed.: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul: Porto Alegre. 538 p.

Gunn, P. J., Schultz, A. F., Van Emon, M. L., Neary, M. K., Lemenager, R. P., Pas, C. P., & Lake, S. L. (2010). Effects of elevated crude glycerin concentrations on feedlot performance, carcass characteristics, and serum metabolite and hormone concentrations in finishing ewe and wether lambs. *The Professional Animal Scientist*, 26:298-306.

Jesus, I. B., Bagaldo, A. R., Barbosa, L. P., Oliveira, R. L., Garcez, Neto, A. F., Silva, T. M., Macome, F. M., & Ribeiro, C. V. D. M. (2010). Níveis de óleo de licuri [*Syagrus coronata* (Martius) Beccari] na dieta de cabritos 3/4 Boer. *Revista Brasileira Saúde e Produção Animal*, 11:1163-1175.

Kanek, J. J., Harvey, J. W., & Bruss, M. L. (2008). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6 Ed.: Academic Press: San Diego, 916p.

Kerr, B. J., Weber, T. E., Dozier, W. A., & Kidd, M. T. (2009). Digestible and metabolizable energy content of crude glycerin originating from different sources in nursery. *Journal Animal Science*, 87:4042-4049.

Kozloski, G. V. (2019). *Bioquímica dos Ruminantes*. 3Ed.: Editora UFSM: Santa Maria, 212p. ISBN 9788573911503.

Krehbiel, C. R. (2008). Ruminal and physiological metabolism of glycerin. *Journal of Animal Science*, 86(2):392.

Lage, J. F., Paulino, P. V. R., Pereira, L. G. R., Valadares Filho, S. C., Oliveira, A. S., Detmann Souza, N. K. P., & Lima, J. C. M. (2010). Glicerina bruta na dieta de cordeiros terminados em confinamento. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 45(9):1012-1020.

Lima, E. H. F., Mendonça, C. L., Cajueiro, J. F. P., Carvalho, C. C. D., Soares, P. C., Souto, R. J. C., Drummond, A. R. F., & Afonso, J. A. B. (2016). Efeito da monensina sódica sobre o perfil metabólico de ovelhas antes e após o parto. *Ciência Animal Brasileira*, 17(1):105-118.

Menten, J. F. M., Miyada, V. S., & Berenchein, B. (2008). *Glicerol na alimentação animal*. In: Simpósio sobre Manejo e Nutrição de Aves e Suínos, Campinas, SP. Simpósio sobre Manejo e Nutrição de Aves e Suínos. Campinas. Anais. Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal. p.101-114.

National Research Council. (2007). *Nutrient requirements of dairy cattle*, National Academy Press: Washington. 381 p.

Ogilvie, T. H. (2000). *Doenças do sistema gastrintestinal dos bovinos*. In: Medicina interna de grandes animais. Artmed: São Paulo, p. 61-96.

Pereira, A. S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. J., & Shitsuka, R. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM. Disponível em: https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1.

Ribeiro, L. A. O., González, F. H. D., Conceição, T. R., Brito, M. A., La Rosa, V. L., & Campos, R. (2003). Perfil metabólico de borregas Corriedale em pastagem nativa do Rio Grande do Sul. *Acta Scientiae Veterinariae*, Porto Alegre, 31:167-170.

Rosol, T. J., & Capen, C. C. (1997). *Calcium-regulating hormones and disease of abnormal mineral (calcium, phosphorus, magnesium) metabolism*. In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals Kaneko, J.J.; Harvey, J.W. & Bruss, M.L. 5. Ed.; Academic Press: London, UK, pp. 619-87.

Santos, C. B., Araújo, M. J., Bezerra, L. R., Marques, C. A. T., Torreão, J. N. C., Freitas, N. E., Oliveira Neto, C. B., & Morais, J. S. (2018). Parâmetros hematológicos e bioquímicos de cabras lactantes alimentadas com dietas contendo glicerina bruta oriunda da produção de biodiesel proveniente de óleo de fritura. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 70(6): 1867-1876.

Schutte, J. E., Longhurst, J. C., Gaffney, F. A., Bastian, B. C., & Blomqvist, C. G. (1981). Total plasma creatinine: an accurate measure of total striated muscle mass. *Journal of Applied Physiology*, 51:762-766.

Statistical Analyses System Institute, Inc (2009). *SAS user's guide: Statistics Version*. SAS, Cary, N. C.

Strobel, H. J., & Russell, J. B. (1986). Effect of pH and energy spilling on bacterial protein synthesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. *Journal of Dairy Science*, 69:2941.

Van Cleef, E. H. C. B., Almeida, M. T. C., Perez, H. L., Paschoaloto, J. R., Castro Filho, E. S. & Ezequiel, J. M. B. (2018). Effects of partial or total replacement of corn cracked grain with high concentrations of crude glycerin on rumen metabolism of crossbred sheep. *Small Ruminant. Research*, 159:45–51.

Wang, C., Liu, Q., Yang, W. Z., Huo, W. J., Dong, K. H., Huang, Y. X., Yang, X. M., & He, D. C. (2009). Effects of glycerol on lactation performance, energy balance and metabolites in early lactation Holstein dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 151:12-20.

Wittwer, F. (2000). *Diagnósticos dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos*. In: González FHD, Barcellos JO, Ospina H & Ribeiro LAO. Perfil Metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Gráfica da Universidade Federal do

Rio Grande do Sul: Porto Alegre. 106p.

Contribuição percentual de cada autor no manuscrito

Emanuel Felipe Oliveira Filho – 15%

Pierre Castro Soares –15%

Caio Alves da Costa – 15%

Gilcifran Prestes de Andrade – 15%

Francisco Fernando Ramos de Carvalho – 10%

Daniel Nunes de Araújo Gonçalves – 10%

Ângela Maria Vieira Batista – 10%

Cleyton Charles Dantas Carvalho – 10%