

EFEITO DA GLICERINA SOBRE PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DO LÍQUIDO RUMINAL E DA URINA DE BOVINOS DE CORTE

EFFECT OF GLYCERIN ON PHYSICAL AND CHEMICAL PARAMETERS OF RUMEN FLUID AND URINE OF BEEF CATTLE

D. A. V. SILVA^{1*}, J. M. B. EZEQUIEL², E. H. C. B. VAN CLEEF³

RESUMO

Objetivou-se com este estudo avaliar parâmetros físicos e químicos da urina e do líquido ruminal de bovinos alimentados com glicerina. Cinco bovinos Nelore, machos, castrados, canulados no rúmen, com aproximadamente 24 meses e 400 kg de peso corporal foram utilizados para colheitas de líquido ruminal e urina. Os animais foram mantidos em baias individuais recebendo cinco dietas experimentais contendo 0; 7,5; 15; 22,5 e 30% de glicerina, com base na matéria seca, formuladas na proporção volumoso:concentrado de 30:70. A silagem de milho foi usada como volumoso e o concentrado foi composto por milho em grão, casca de soja, farelo de girassol, glicerina e suplemento mineral. O período experimental foi de 105 dias, dividido em cinco subperíodos de 21 dias cada. As colheitas de líquido ruminal e urina foram realizadas antes e duas horas após a alimentação dos animais no dia 20 de cada subperíodo experimental. O delineamento utilizado foi o quadrado latino 5x5 com parcela subdividida no tempo. Nenhum dos parâmetros estudados no líquido ruminal foi influenciado pelas dietas ($P>0,05$), nem pelos momentos de colheita ($P>0,05$), exceto o pH ($P<0,0001$). Quanto às análises da urina, não houve efeito significativo dos tratamentos sobre suas características físicas, porém houve efeito linear decrescente dos tratamentos sobre o pH ($P<0,0001$) e proteína ($P = 0,004$) e efeito linear crescente dos tratamentos sobre a densidade ($P = 0,001$). A glicerina, independentemente da concentração utilizada, proporcionou aumento da densidade ($P = 0,009$) e diminuição do pH ($P<0,0001$). O momento de colheita da urina não influenciou nenhum dos parâmetros estudados. Dietas para bovinos de corte com até 30% de glicerina, promovem alterações nos parâmetros químicos da urina, indicando modificações no metabolismo renal.

PALAVRAS-CHAVE: Biodiesel. Metabolismo. Ruminantes.

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate physical and chemical parameters of urine and rumen fluid of cattle fed diet with glycerin added. Rumen fluid and urine samples were collected from five castrated Nelore bulls, cannulated in the rumen, aged approximately 24 months and weighing 400 kg. The animals were kept in individual stalls and fed five experimental diets containing 0, 7.5, 15, 22.5 and 30% of glycerin, based on dry matter and forage:concentrate ratio of 30:70. Corn silage was used as forage, and the concentrate was made of corn grain, soybean hulls, sunflower meal, glycerin and mineral supplement. The experiment lasted 105 days, divided into five sub-periods of 21 days each. The rumen fluid and urine samples were taken before and two hours after the meal on the 20th day of each experimental subperiod. The experimental design was the 5 x 5 Latin square with split plots. None of the parameters studied in rumen fluid was influenced by diet ($P>0.05$), nor the times of harvest ($P>0.05$) except ruminal pH ($P<0.0001$). The analysis of urine, showed no significant effect of treatment on their physical characteristics, but there was a linear effect of treatments on pH ($P<0.0001$) and protein ($P = 0.004$) and increasing linear effect of treatments on the density ($P = 0.001$). The glycerin, regardless of the concentration used, increased density ($P = 0.009$) and decreased pH ($P<0.0001$). The timing of the urine sampling did not influence any of the parameters studied. Diets for beef cattle with 30% glycerin promote changes in the chemical parameters of urine, indicating changes in renal metabolism.

KEY-WORDS: Biodiesel. Metabolism. Ruminants.

¹ Veterinary Medicine under graduate student of Unesp - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal. Amador Joly Street, 87, Chácara São João, Mogi Guaçu-SP. davidattuy@hotmail.com.

² Professor of Animal Science Department of Unesp - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal.

³ Post-doctoral student of Animal Science Department of Kansas State University - Manhattan Campus, EUA.

INTRODUÇÃO

A glicerina excedente gerada na cadeia produtiva do biodiesel deve ser foco de análises mais detalhadas, pois existem poucos estudos acerca do seu aproveitamento e viabilidade econômica. Uma alternativa é o uso da glicerina na alimentação de animais (DONKIN, 2007, PARSONS et al., 2009, MACH et al., 2009), porém os resíduos de metanol e outros contaminantes podem ser um problema, gerando alterações metabólicas, acarretando em prejuízos aos animais e aos produtores.

A avaliação de ingredientes alternativos para a alimentação de ruminantes deve incluir investigações sobre o padrão de fermentação ruminal, que está associado ao potencial do alimento em promover o desempenho dos animais. A análise do fluido ruminal é de indiscutível valor no diagnóstico de enfermidades ligadas ao aparelho digestivo dos ruminantes, pois a microbiota do rúmen é altamente sensível às alterações externas e internas às quais rotineiramente os animais são submetidos (BORGES et al., 2002).

A urina é um dos principais fluidos de excreção de substâncias nocivas ao organismo. A maior ou menor taxa de filtração, reabsorção e excreção de alguns nutrientes e catabólitos pelos rins permitem que a urina seja utilizada no diagnóstico de algumas enfermidades metabólicas (ORTOLANI, 2003).

Na maioria dos transtornos metabólicos, as alterações iniciais podem ser detectadas no líquido ruminal e urina, pois, nestas alterações, as mudanças nos valores de referência nesses líquidos são significativamente mais evidentes do que no próprio sangue. Durante as doenças subclínicas, os desvios dos valores normais no sangue são muito pequenos devido aos mecanismos de homeostase. Por isso, é muito importante o diagnóstico mediante exames de laboratório simples no líquido ruminal e na urina, que possam ser realizados em condições de campo (BOUDA et al., 2000).

Considerando a escassez de pesquisas e informações sobre a utilização da glicerina bruta na dieta de bovinos de corte aliada à grande importância da atividade pecuária e à indústria de produção de biodiesel no Brasil, acredita-se que este coproduto possa ser utilizado como fonte energética alternativa em dietas de bovinos de corte, na substituição de alimentos convencionais como o milho. Portanto, o objetivo deste estudo foi verificar alterações ruminais e renais em bovinos alimentados com até 30% de glicerina bruta na matéria seca da dieta.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Unidade Animal de Estudos Digestivos e Metabólicos pertencente ao Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Campus de Jaboticabal (Unesp/ FCAV).

As dietas experimentais foram denominadas: G0 – controle, sem adição de glicerina; G7,5 – 7,5% de glicerina na matéria seca da dieta; G15 – 15% de glicerina na matéria seca da dieta; G22,5 – 22,5% de glicerina na matéria seca da dieta e G30 – 30% de glicerina na matéria seca da dieta. A alimentação foi oferecida duas vezes ao dia, às 8h e às 17h. O concentrado e o volumoso foram fornecidos *ad libitum* e pesados separadamente em quantidades iguais em cada tempo do fornecimento. As dietas experimentais foram formuladas para atender às exigências mínimas de nutrientes, de acordo com o NRC (1996). As cinco dietas isoprotéicas (12,2% de PB na MS) e isoenergéticas (2,5 Mcal EM/ kg MS) continham proporção volumoso:concentrado de 30:70, sendo a silagem de milho o volumoso e o concentrado composto por grão de milho, casca de soja, farelo de girassol e suplemento mineral, além da glicerina nos tratamentos que receberam sua adição.

Cinco bovinos da raça Nelore, machos, castrados, com aproximadamente 24 meses de idade e 400 kg de peso corporal, dotados de cânulas permanentes no rúmen, foram utilizados para avaliar as características físicas (cor, cheiro e viscosidade) da urina, alguns parâmetros químicos (pH, densidade, presença de corpos cetônicos, sangue, proteínas, urobilinogênio, bilirrubina, nitrito e leucócitos) da urina utilizando-se tiras reagentes de química seca Combur Test® e as características físicas (cor, cheiro, viscosidade e tempo de flutuação) e químicas (pH e atividade redutiva bacteriana) do líquido ruminal.

Para a análise das características físicas da urina foram estipulados escores 1 (aquosa) e 2 (mucosa) para viscosidade, de 1 a 5 (incolor-aquosa, amarelo clara, amarelo ouro, vermelha-marrom e vermelha escura, respectivamente) para cor e de 1 a 3 (aromático, adocicado e amoniacal, respectivamente) para cheiro. Os parâmetros químicos (urobilinogênio, nitrito e leucócitos) foram interpretados segundo os escores 1 (presente) ou 2 (ausente), e os parâmetros químicos (proteínas, sangue, corpos cetônicos e bilirrubina) foram interpretados segundo os escores 1, 2 e 3, conforme suas concentrações crescentes (BOUDA et al., 2000).

Também foram adotados escores para classificação das características físicas do líquido ruminal. Escore 1 para cor verde oliva, cheiro aromático não repulsivo e consistência aquosa, escore 2 para cor acinzentada, cheiro ácido e consistência ligeiramente viscosa e escore 3 para cor verde escuro e cheiro pútrido. O pH foi determinado através de peagâmetro digital marca Digimed, modelo DM 20 e a atividade redutiva bacteriana mediante prova de oxido-redução com azul de metileno (BOUDA et al., 2000).

O período experimental foi de 105 dias, dividido em cinco subperíodos de 21 dias cada. As colheitas de urina e líquido ruminal foram realizadas antes e duas horas após a primeira alimentação dos animais, no final de cada subperíodo experimental. A urina foi colhida através do método da micção espontânea.

O delineamento utilizado foi o quadrado latino 5x5 com parcela subdividida no tempo. Foi realizada a

análise dos contrastes para os efeitos linear, quadrático, cúbico e do tratamento sem adição de glicerina em comparação aos com adição de glicerina, através do procedimento MIXED do programa estatístico *Statistical Analysis System* (SAS) versão 9.1. O nível de significância estabelecido foi de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nenhum dos parâmetros estudados no líquido ruminal foi influenciado pelas dietas ($P>0,05$), nem pelos momentos de colheita do líquido ruminal ($P>0,05$), tampouco a interação entre as dietas e os momentos de colheita ($P>0,05$), exceto o pH ruminal ($P<0,0001$) que apresentou valor médio superior quando aferido antes da alimentação (6,64) comparado com o valor obtido após duas horas da primeira alimentação (5,88), fato que já era esperado devido à fermentação ruminal e conseqüente acidificação do meio, sendo a média de pH entre os tratamentos nas duas colheitas de 6,26 com Erro Padrão da Média (EPM) igual a 0,3273 e Coeficiente de Variação (CV) de 5,21%. Os resultados encontrados são mostrados na Figura 1.

Vargas et al (2001), trabalhando com bovinos alimentados com diferentes níveis de concentrado na dieta (0, 25, 50 e 75%), também obtiveram efeito significativo linear decrescente quanto aos momentos de coleta (0, 3 e 6 horas depois da alimentação), com valores de pH que variaram de 6,8 a 6,4 e não obtiveram efeito significativo quanto aos diferentes níveis de concentrado, evidenciando a ação de

mecanismos compensatórios à produção e absorção de ácidos graxos, como a presença de tampões no líquido ruminal oriundos da saliva e a presença ou liberação de tampões ou bases do alimento.

No exame macroscópico do líquido ruminal, a cor visualizada foi a verde oliva, o que está em desacordo com o sugerido por Zilio et al. (2008) para dietas de alto concentrado, que deveria ser de cor leitosa, porém os animais não receberam apenas concentrado na dieta. Sendo assim, o volumoso (silagem de milho), apesar de possuir grãos em sua composição, pode ter influenciado favoravelmente na coloração do líquido ruminal, mantendo sua coloração verde oliva.

Barbosa et al (2003) avaliaram 6 animais, 3 bovinos e 3 bubalinos quanto a cor do líquido ruminal e encontraram colorações que variaram do verde oliva ao amarelo-palha, resultados condizentes com a dieta de capim-elefante que recebiam. Portanto, animais que recebem dietas com altos níveis de grãos na dieta associados a volumosos podem ter a cor do líquido ruminal aproximada do verde-oliva, o que foi observado no presente estudo.

A consistência (viscosidade) normal do conteúdo ruminal é ligeiramente viscosa, assim como o odor normal, que é aromático e embora forte, não é repulsivo (BOUDA et al., 2000), características que foram encontradas no presente estudo. Mudanças na cor e/ou viscosidade do líquido ruminal sugerem afecções ruminais, como o timpanismo espumoso (VAN CLEEF, 2009), indigestão simples ou alcalose ruminal (QUIROZ-ROCHA & BOUDA, 2000).

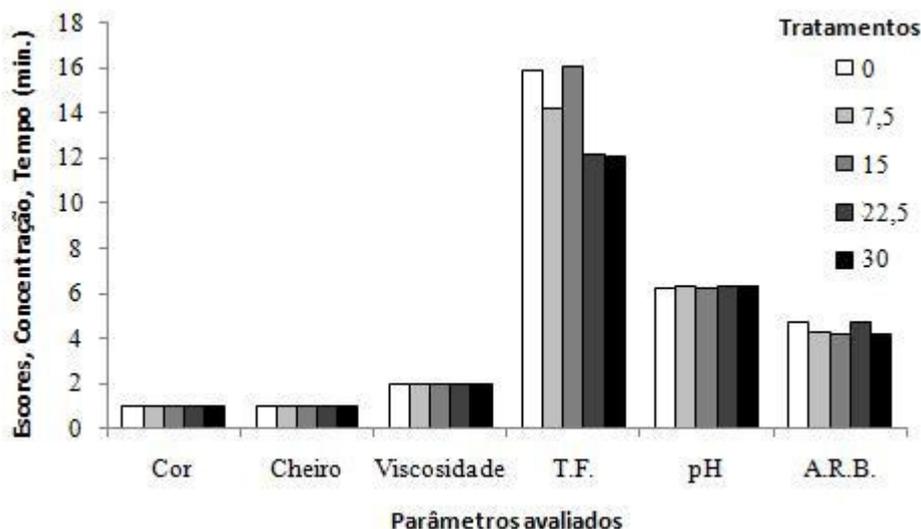


Figura 1 - Parâmetros químicos e físicos do líquido ruminal de bovinos alimentados com dietas contendo diferentes porcentagens de glicerina bruta.

T.F. = Tempo de flutuação; A.R.B.=Atividade Redutiva Bacteriana.

O tempo de flutuação, que mede a capacidade de fermentação através da produção de gás pelas bactérias ruminais, foi, em média, de 14 minutos com EPM igual a 5,2561 e CV de 37,02%, tempo este acima do sugerido como normal por Bouda et al. (2000), que é de 4 a 8 minutos para bovinos.

Na maioria das vezes, animais que recebem dietas com maior relação volumoso:concentrado apresentam tempo de flutuação ruminal aproximadamente de 4 minutos (BARBOSA et al., 2003, TABELÃO et al., 2007). Portanto, animais que recebem menor relação, apresentam maior tempo de flutuação ruminal, assim como foi evidenciado neste estudo, já que a relação volumoso:concentrado ingerida pelos animais foi de 30:70.

O tempo acima do normal sugere acidose ruminal, porém apenas esse parâmetro isolado não tem poder diagnóstico para tal enfermidade e pode ser explicado pelo alto nível de concentrado na dieta dos animais, o que contribuiu para o padrão fermentativo ruminal apresentado. Entretanto, não se pode inferir que o padrão ruminal apresentado foi devido à adição de glicerina na dieta, pois evidenciou-se os maiores tempos de flutuação nos tratamentos controle e no tratamento com adição de 15% de glicerina na dieta.

Quanto às análises da urina, não houve efeito significativo dos tratamentos sobre suas características físicas (Figura 2), porém houve efeito linear decrescente dos tratamentos sobre o pH ($P < 0,0001$) e proteína ($P = 0,004$) e efeito linear crescente dos tratamentos sobre a densidade ($P = 0,001$). As médias dos escores e concentrações encontradas foram 8,06 para pH com EPM = 0,5117 e CV = 6,34%, 2,53 para proteínas com EPM = 0,5026 e CV = 19,86% e 1012 para densidade com EPM = 3,5494 e CV = 29,98%. A

glicerina, independentemente da concentração utilizada, proporcionou aumento da densidade ($P = 0,009$) e diminuição do pH ($P < 0,0001$). O tempo de colheita da urina também não influenciou nenhum dos parâmetros estudados (Figura 3). Não houve interação significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos e os momentos de colheita.

A urina incolor-aquosa é indicativa de excreção aumentada (poliúria), ingestão aumentada de água, acetonemia ou insuficiência renal grave (BOUDA et al., 2000). Cor amarela ouro indica redução da diurese como ocorre em doença febril ou em transtornos gerais graves e cor vermelha-marrom a vermelha-escura corresponde à presença de sangue ou hemoglobina (BOUDA et al., 2000). O cheiro adocicado é frequente na acetonemia, enquanto que o aroma amoniacal pode assinalar a presença de infecção bacteriana (BOUDA et al., 2000). A viscosidade pode adquirir consistência mucosa pela presença de muco ou pus devido a processos pielonefríticos (BOUDA et al., 2000). Tais alterações na cor, cheiro e viscosidade da urina não foram encontradas no presente estudo.

Apesar da variação encontrada nos valores de pH urinário, estes se mantiveram dentro do limite sugerido como normal por Kaneko et al. (2008), que é de 7,4 a 8,4. Os casos de pH abaixo deste intervalo podem ser sugestivos de acidose e quando acima, é sugestivo de alcalose, pielonefrite e cistite. Normalmente, os bovinos criados extensivamente têm pH urinário bastante alcalino, já que os capins contêm mais cátions do que ânions, enquanto que animais recebendo dietas ricas em carboidratos solúveis apresentarão pH urinário mais ácido, principalmente pela maior formação ruminal de ácidos graxos de cadeia curta (Ortolani, 2003).

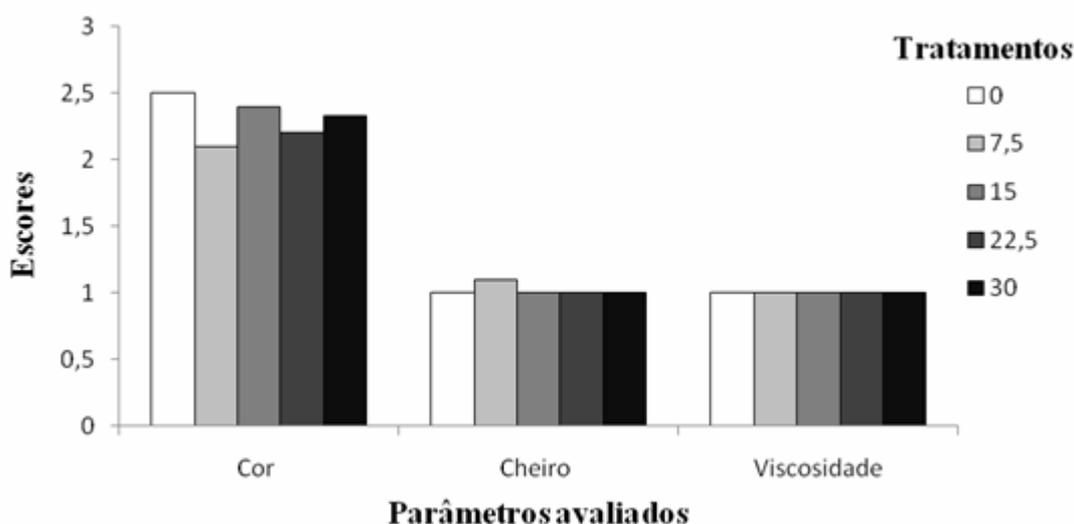


Figura 2 - Parâmetros físicos da urina de bovinos alimentados com dietas contendo diferentes porcentagens de glicerina bruta.

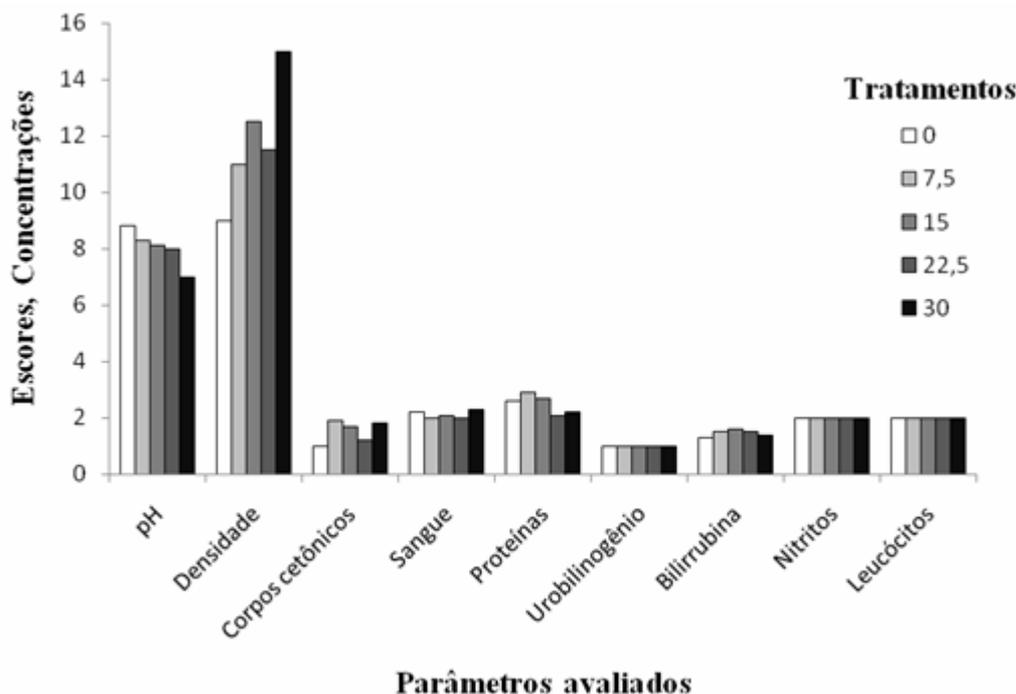


Figura 3 - Parâmetros químicos da urina de bovinos alimentados com dietas contendo diferentes porcentagens de glicerina bruta.

Del Claro et al (2002) trabalharam com dietas basais e dietas aniônicas para bovinos e constataram que dietas aniônicas baixam o pH urinário (5,56) enquanto que as dietas basais o mantiveram no valor médio de 8,17, concluindo assim que os rins são importantes na manutenção do equilíbrio ácido-base, pois quando o pH sanguíneo tende a se tornar ácido, como nos casos de acidose metabólica induzida por dietas de alto concentrado, os rins respondem excretando íons amônio (NH_4^+), baixando o pH da urina, o que corrobora com o presente estudo.

Devido ao efeito significativo decrescente encontrado sobre os valores de pH, pode-se sugerir que concentrações maiores de glicerina na dieta associadas a altos níveis de concentrado na dieta e a um tempo maior de contato com tais ingredientes, poderia causar danos significativos à saúde animal, abaixando ainda mais o pH, o que poderia causar prejuízos à saúde e consequente queda no desempenho animal.

As proteínas devem ser ausentes na urina, porém podem aparecer em quantidades muito baixas. Quando presentes em alta quantidade podem ser associadas a qualquer processo inflamatório ou à nefrose (BOUDA et al., 2000).

Saglam et al. (2003), Rossetti et al. (2004) e Haanwinckel et al. (2004) citaram que alterações como degeneração e necrose de células epiteliais tubulares ocorrem em túbulos proximais e distais em doenças infecciosas e se manifestam pela urinálise anormal, frequentemente mostrando proteinúria e cilindros hialinos no lume dos túbulos. No presente estudo não foi evidenciada a presença de proteínas na urina em

grande quantidade, portanto, pode-se descartar possíveis alterações de origem inflamatória, degenerativa ou infecciosa.

O teste da densidade urinária é clinicamente usado porque a baixa habilidade de concentrar urina é um dos primeiros sinais de doença tubular renal (BOUDA et al., 2000). O tratamento com adição de 30% de glicerina apresentou a maior densidade urinária, podendo-se assim inferir que a adição de glicerina não favorece a ocorrência de distúrbios tubulares, já que o tratamento controle (G0) foi o que apresentou menor densidade urinária.

CONCLUSÃO

A inclusão de até 30% de glicerina bruta, não influencia os parâmetros do líquido ruminal estudados, porém gera algumas alterações nos parâmetros químicos da urina, porém, tais alterações, não são suficientes para causar prejuízos significativos à saúde animal, o que prejudicaria o desempenho animal.

REFERÊNCIAS

BARBOSA, J. D.; ÁVILA, S. C.; DIAS, R. V. C.; PFEIFER, I. B.; OLIVEIRA, C. M. C. **Estudo comparativo de algumas provas funcionais do fluido ruminal e de metabólitos sanguíneos de bovinos e**

- bubalinos.** Pesquisa Veterinária Brasileira. v.23, n.1, 2003.
- BORGES, N. C.; SILVA, L. A. F.; FIORAVANTI, M. C. S.; CUNHA, P. H. J.; MORAES, R. R.; GUIMARÃES, P. R.; MARTINS, M. E. P. Avaliação do suco ruminal de bovinos “a fresco” e após 12 horas de conservação. **Ciência Animal Brasileira.** v.3, n.2, p.57-63, 2002.
- BOUDA, J.; QUIROZ-ROCHA, G.; GONZÁLEZ, F. H. D. Importância da coleta e análise do líquido ruminal e urina. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; BORGES, J. B.; CECIM, M. (Eds.). **Uso de provas de campo e de laboratório clínico em doenças metabólicas e ruminais dos bovinos.** Porto Alegre, Brasil, Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.13-17, 2000.
- DEL CLARO, G. R.; ZANETTI, M. A.; SALLES, M. S. V. **Influência da dieta aniônica no balanço macromineral em novilhos holandeses.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. v.54, n.3, 2002.
- DONKIN, S. S. Performance of dairy cows fed glycerol as a primary feed ingredient. **Journal of Animal Science.** v.85, n.1, p.350, 2007.
- HAANWINCKEL, M. C. S.; MEGID, J.; SOUZA, L. C. Avaliação da prova de imunoperoxidase como recurso diagnóstico na leptospirose animal. **Arquivos do Instituto Biológico.** v.71, p.293-01, 2004.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. C. **Clinical biochemistry of domestic animals.** 6.ed. San Diego: Academic Press, 2008. 928p.
- MACH, N.; BACH, A.; DEVANT, M. Effects of crude glycerin supplementation on performance and meat quality of Holstein bulls fed high-concentrate diets. **Journal of Animal Science,** v.87, p.632-638, 2009.
- NRC. **Nutrient Requirements of Beef Cattle.** Washington, DC: National Academic Press, 7.ed., 1996.
- ORTOLANI, E. L. Diagnóstico de doenças nutricionais e metabólicas por meio de exame de urina em ruminantes. In: I SIMPÓSIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA DA REGIÃO SUL DO BRASIL, 2003, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: UFRGS, 2003, p.91-102.
- PARSONS, G. L.; SHELOR, M. K.; DROUILLARD, J. S. Performance and carcass traits of finishing heifers fed crude glycerin. **Journal of Animal Science,** v.87, p.653-657, 2009.
- QUIROZ-ROCHA, G.F.; BOUDA J. Diagnóstico de indigestão simples, alcalose ruminal e intoxicação por uréia. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; BORGES, J.B.; CECIM, M. (Eds.). **Uso de provas de campo e de laboratório clínico em doenças metabólicas e ruminais dos bovinos.** Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000, p.23-27.
- ROSETTI, C. A.; VANASCO, B. N.; PINI, N.; CARFAGNINI, J. C. Comparison of three diagnostic techniques for the detection of leptospire in the kidneys of wild house mice (*Mus musculus*). **Pesquisa Veterinária Brasileira.** v.24, p.6-10, 2004.
- SAGLAM, Y. S.; TEMUR, A.; ASLAN, A. Detection of leptospiral antigens in kidney and liver of cattle. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift.** v.110, p.75-7, 2003.
- TABELEÃO, V. C.; DEL PINO, F. A. B.; GOULART, M. A.; WEISER, M. A.; SCHWEGLER, E.; MOURA, S. V.; SILVA, V. M.; ROOS, T. B.; GIL-TURNES, C.; GONZÁLEZ, F. H. D.; CORRÊA, M. N. Caracterização dos parâmetros ruminais e metabólicos de cordeiros mantidos em pastagem nativa. **Ciência Animal Brasileira.** v.8, n.4, p.639-646, 2007.
- VAN CLEEF, E. H.; PATIÑO, R. P.; NEIVA JR, A. P.; SERAFIM, R.S.; REGO, A. C.; GONÇALVES, J. S. Distúrbios metabólicos por manejo alimentar inadequado em ruminantes: Novos conceitos. **Revista Colombiana de Ciencia Animal.** v.1, n.2, 2009.
- VARGAS, L. H.; LANA, R. P.; MÂNCIO, A. B.; CAMPOS, J. M. S.; JHAM, G. M.; OLIVEIRA, M. V. M. Influência de Rumensin®, óleo de soja e níveis de concentrado sobre o consumo e os parâmetros fermentativos ruminais em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia.** v.30, n.5, p.1650-1658, 2001.
- ZILIO, B. S.; CRUZ, E. V., ANDRADE JÚNIOR, J. P.; MERLINI, G. P.; MARQUES, L. E.; DUQUE, P. V. T.; SACCO, S. R. Análise do líquido ruminal – Revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária.** v.6, n.11, 2008.