

## Het gebruik van glucogene precursoren in de voeding van hoogproductief melkvee

M. Hostens, P. Bossaert, S. Cools, A. de Kruif, G. Opsomer

Vakgroep Voortplanting, Verloskunde en Bedrijfsdiergeneeskunde,  
Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent,  
Salisburylaan 133, B - 9820 Merelbeke

Miel.Hostens@UGent.be

### SAMENVATTING

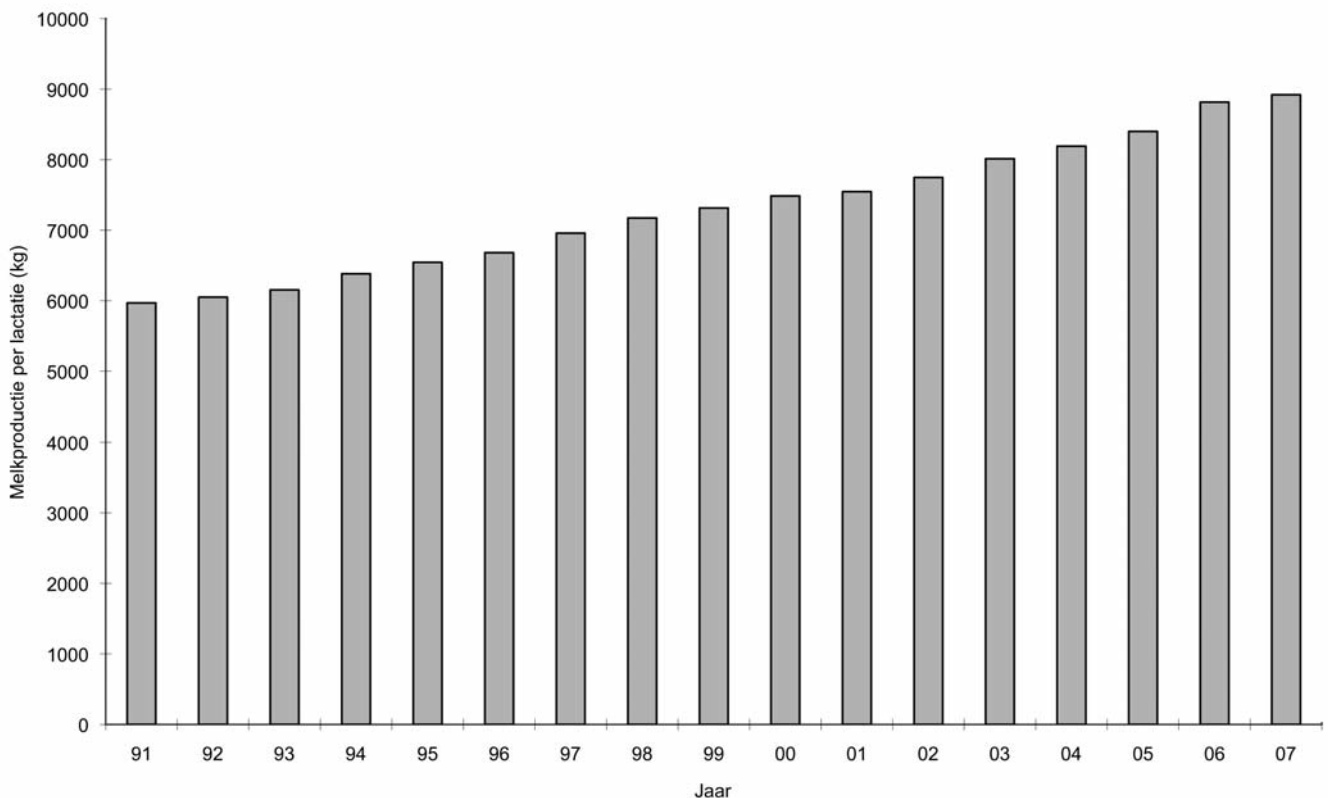
De periode rondom het afkalven is de meest kritieke periode van de lactatiecyclus van hoogproductieve melkkoeien. De belangrijkste oorzaak hiervan is het feit dat de stijging van de melkproductie na het afkalven sneller verloopt dan de stijging van de drogestofopname waardoor de dieren in een negatieve energiebalans terechtkomen. Vijftig jaar na de eerste melding van klinische en subklinische ketonemie wordt wereldwijd de inzetbaarheid van glucogene precursoren, zoals propyleenglycol (PPG) en glycerol (GL), nog steeds onderzocht om dit probleem zowel curatief als preventief aan te pakken. Over het preventief inschakelen van glucogene precursoren bestaat heel wat controverse, zeker nu ook GL vaker ingezet wordt vanwege zijn gunstige prijs. Propyleenglycol is het enige product waarover tot nu toe resultaten zijn gepubliceerd. PPG leidt tot een minder negatieve energiebalans zoals kan worden afgeleid uit het verloop van de metabole parameters die gebruikt worden om de negatieve energiebalans in te schatten (insuline, NEFA, BHB). Hierbij dient opgemerkt te worden dat dit effect voornamelijk gezien wordt bij toediening via een orale *drench* gedurende een langere periode (30 dagen). Zowel PPG als GL leidt tot een daling van de drogestofopname indien beide producten worden toegediend via een totaal gemengd rantsoen. Er is, zeker wat GL betreft, meer onderzoek nodig alvorens besloten kan worden om glucogene precursoren te gebruiken in de melkveevoeding ter preventie van (sub)klinische ketonemie.

### INLEIDING

In het begin van de jaren '50 van de 20<sup>ste</sup> eeuw werd voor het eerst melding gemaakt van het gebruik van glucogene precursoren, zoals propyleenglycol en glycerol, voor de behandeling van zowel primaire als secundaire ketonemie (Johnson, 1954; Maplesden, 1954). Beide onderzoekers hadden opgemerkt dat ketonemie vaker voorkwam bij dieren met de hoogste productie. De gemiddelde lactatieproductie is de afgelopen 20 jaar gestegen met ongeveer 3000 kg (Figuur 1). Dit impliceert dat een koe die melk produceert met 4,5 % lactose, 4,3 % vet en 3,4 % eiwit in totaal zo'n 360 kg droge stof meer produceert dan een koe van 20 jaar geleden. Ondanks een gelijktijdig toegenomen lactatieleugte leidt dit tot een gestegen dagelijkse productie van 0,83 kg droge stof via de melk. Deze productiestijging is vooral tot stand gekomen door de intens doorgevoerde genetische selectie binnen het holsteinras gecombineerd met een optimalisering van de voeding (van Kneysel et al., 2005). Vooral de behoefte aan glucose is hierbij van doorslaggevend belang. Glucose is immers noodzakelijk voor de productie van lactose in de uier, en lactose bepaalt via osmotische aantrekking op haar beurt hoeveel melk er wordt geproduceerd. De aanmaak van glucose bedraagt de laatste 3 weken vóór het kalven gemiddeld 1000 tot 1100 g per dag en stijgt daarna tot 2500 g per dag op dag 21 na het kalven (Overton, 1998).

Het in vele gevallen niet gelijktijdig mee-evolueren van het management met het genetisch potentieel van

de koeien heeft er op veel melkveebedrijven voor gezorgd dat men 50 jaar na de eerste melding door Johnson en Maplesden nog steeds met het probleem van klinische en (tegenwoordig steeds vaker) subklinische ketonemie te kampen heeft. Over het gebruik van glucogene precursoren bij de behandeling van ketonemie bestaat zowel in de literatuur als in de praktijk reeds lange tijd een consensus. Het parenteraal toedienen van glucose en het per oraal toedienen van glucoseprecursoren zijn en blijven immers de behandeling bij uitstek wanneer er sprake is van ketonemie (Cools *et al.*, 2008). Over het preventief gebruik van deze producten bestaat echter nog heel wat onenigheid, zeker nu ook GL vaker ingezet wordt vanwege zijn gunstige prijs. De discussie behelst vooral de vraag of alle hoogproductieve koeien in de transitieperiode routinematig met deze producten gesupplementeerd moeten worden. Glycerol is een bijproduct van de steeds populairder wordende productie van biodiesel, wat meteen ook de lage prijs verklaart (Goff en Horst, 1997). In de voorbije jaren is de interesse in beide producten gestegen, zowel bij veehouders als dierenartsen en voedingsadviseurs. De producten worden bovendien steeds vaker gebruikt in krachtvoerders die aan hoogproductief melkvee in het begin van de lactatie worden verstrekt. In dit artikel wordt een overzicht gegeven van wat tot nu toe bekend is over het werkingsmechanisme van beide producten en van hun invloed op de melkproductie, voeropname en bloedmetaboliëten teneinde een idee te krijgen van hun eventuele preventieve werking met betrekking tot ketonemie.



**Figuur 1.** Gemiddelde productie per lactatie per koe in België vanaf 1991 tot en met 2007 (VRV, persoonlijke mededeling).

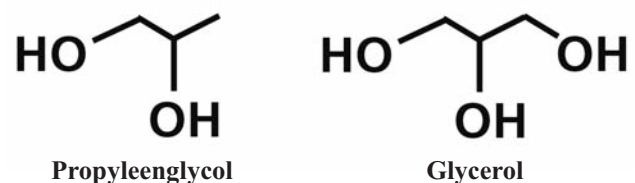
## WERKINGSMECHANISME

### Propyleenglycol

Monopropyleenglycol of 1,2-propaandiol (PPG) is een glycol, wat wil zeggen dat het een organische verbinding is die gekenmerkt wordt door twee afzonderlijke hydroxyl (OH-) groepen (Figuur 2). Het wordt verkregen uit de hydrolyse van propeenoxide of propyleenoxide en is een bijproduct van de productie van polymeren. Het is een reukloze en kleurloze visceuze vloeistof.

Miyoshi *et al.* (2001) vermeldden voor PPG een energiedichtheid van 23,7 MJ metaboliseerbare energie (ME) per kg product. Omgerekend levert 500 ml PPG (dichtheid 1,04 g/ml) bij een efficiëntie van energie voor lactatie van 80 %, 9,8 MJ netto energie voor lactatie (NE<sub>L</sub>). Dit komt overeen met ongeveer 1400 voedereenheden melk (VEM) per 500 ml PPG of een equivalent van 1,5 kg handelskrachtvoeder. Daarentegen wordt door het Dairy One Laboratorium in de VSA 10,6 MJ per kg product gehanteerd als NE<sub>L</sub> (Dairy One Cooperative Inc, Ithaca, persoonlijke mededeling). Omgerekend naar 500 ml komt dit overeen met een energiewaarde van slechts 800 VEM. Experimenten bij schapen en koeien hebben aangetoond dat na toediening ongeveer de helft van het PPG (100 tot 910 g) binnen 1 tot 2 uur uit de pens verdwijnt en 80-90 % binnen de 3 uur verdwenen is (Clapperton en Czerkawski, 1972; Emery *et al.*, 1967). Dit verklaart de snelle beschikbaarheid van PPG.

Het toegediende PPG verdwijnt uit de pens via 3



**Figuur 2.** Chemische structuur van propyleenglycol en glycerol.

verschillende wegen: (1) absorptie door de penswand, (2) fermentatie door de pensflora en (3) directe passage naar de dunne darm. De eerste fractie wordt na absorptie door de penswand via het bloed naar de lever getransporteerd. De tweede en kleinste fractie wordt in de pens gefermenteerd tot propionaat (Emery *et al.*, 1967; Kristensen en Raun, 2007). De derde fractie wordt intact geresorbeerd in de dunne darm en komt via de *vena portae* eveneens in de lever terecht (Studer *et al.*, 1993). Propyleenglycol is bijna volledig verteerbaar aangezien de hoeveelheid PPG die bij melkkoeien in de feces na toediening van 200 tot 2200 g per dag gevonden wordt, kleiner is dan 0,1 % (Emery *et al.*, 1964; Emery *et al.*, 1967).

Bij de fermentatie van PPG in de pens wordt tijdens de eerste stap na dehydratie propanal (propionaldehyde) gevormd. In een cultuur van *Lactobacillus brevis*, die in de normale pensflora voorkomt (Stewart *et al.*, 1997), heeft men een dehydrase geïsoleerd met een hoge affiniteit voor PPG en die instaat voor deze dehydratie. In een volgende stap wordt 50 % van het

gevormde propanal gebruikt als elektronendonator in een oxidatiereactie met vorming van propionaat. De overblijvende 50 % propanal fungeert als elektronen-acceptor in een reductie tot propanol (Veltman *et al.*, 1998). Het gevormde propionaat wordt na absorptie door de penswand naar de lever getransporteerd, alwaar het na de omzetting tot succinylcoenzyme A (succinyl-CoA) in de krebscyclus wordt opgenomen en aldus finaal aanleiding geeft tot de productie van de glucose-precursor oxaloacetaat. Zeer waarschijnlijk komt het in de pens gevormde propanol na absorptie door de penswand eveneens in de lever terecht, waar het omgezet wordt tot propionaat dat vandaar in de algemene circulatie terecht komt of ingezet wordt in de gluconeogenese (Kristensen en Raun, 2007).

Hoewel PPG initieel zeer snel uit de pens verdwijnt, heeft het toch een traag intermediair metabolisme in de lever. Uit het experiment van Kirstensen en Raun (2007) bleek dat slechts 19 % van de oraal toegediende PPG na opname door de lever kan worden teruggevonden in de lever zelf. Dit wijst op een trage metabolisatie en verklaart tevens waarom de concentratie van PPG in het bloed tot enkele uren na de initiële opname hoog blijft en met andere woorden traag uit het bloed verwijderd wordt. Raun *et al.* (2004) die stieren, na het leegmaken van de pens, een continu jugulair infuus met PPG gaven, observeerden een opstapeling van PPG in de pens. Hiermee werd aangetoond dat het jugulair toegediende PPG wel degelijk via de *arteria mesenterialis* in de pens kan terugdiffunderen. Dit proces kan met andere woorden ook plaats vinden wanneer PPG na orale toediening geresorbeerd wordt uit de pens, via de *vena portae* naar de lever getransporteerd wordt en zo opnieuw via de *arteria mesenterialis* gedeeltelijk terug in de pens vloeit. De koe fungeert op dat moment als PPG-reservoir voor zichzelf.

Het belangrijkste eindproduct van de levermetabolisatie van het rechtstreeks geabsorbeerde PPG blijkt L-lactaat en niet glucose te zijn. Daarmee wordt bewezen dat de metabolisatie door middel van alcohol- en aldehydedehydrogenases de eerste *pathway* is in de lever. Deze metabolisatie via dehydrogenases kan leiden tot de vrijstelling van lactaldehyde in de perifere circulatie, wat de mogelijke neveneffecten van het toedienen van propleenglycol zou kunnen verklaren (Nielsen en Ingvarsten, 2004).

Neveneffecten na het toedienen van PPG aan koeien zijn echter weinig beschreven in de literatuur. De behandeling met relatief hoge dosissen PPG (800-1800 g per dag) van dieren met ketonemie gaf volgens Johnson (1954) hypersalivatie en ataxie. Dit was niet het geval als de dieren behandeld werden met een dosis van 200-500 g per dag. In het ergste geval zijn zowel paarden als koeien gestorven na het accidenteel toedienen van 3-4 kg PPG (Dorman en Haschek, 1991). Veehouders en dierenartsen in Denemarken hebben vastgesteld dat sommige dieren sneller neveneffecten vertonen dan andere (Nielsen en Ingvarsten, 2004). De meest voorkomende symptomen zijn hyperventilatie (snelle oppervlakkige ademhaling), ataxie, hypersalivatie, somnolentie (slaperigheid, lethargie) en depres-

sie. De hyperventilatie kan verklaard worden door de PPG-geïnduceerde hemolyse. Hierdoor ontstaat er een hypoxie waardoor de koe compensatoir sneller ademt (Nielsen en Ingvarsten, 2004).

Uit de literatuur kan men besluiten dat er wel degelijk neveneffecten kunnen voorkomen, vooral bij dosissen hoger dan 500 g per dag. Anderzijds werden er gevallen beschreven van koeien die reeds symptomen vertoonden bij dosissen van minder dan 150 g per dag (Hindhede, 1976). Chronische toxiciteit werd tot op heden nog niet beschreven.

## Glycerol

Glycerol, glycerine of 1,2,3-propaantriol (GL) is de eenvoudigste drievoudige alcohol (Figuur 2). Tijdens het hydrolyseproces van plantaardige of dierlijke vetten worden veresterde vetzuurketens losgeknipt met de vrijstelling van GL als gevolg. Zo ontstaan bij het productieproces van biodiesel, waarbij methanol toegevoegd wordt aan koolzaadolie (plantaardig vet), methylesters (biodiesel), GL en andere bijproducten. Bij de productie van 100 kg biodiesel wordt op deze manier ongeveer 10 kg GL gevormd. Afhankelijk van de verschillende stappen in het productieproces van biodiesel ontstaan glycerolmengsels van verschillende zuiverheden (lage, middelmatige en hoge concentratie GL). De zuiverheid zit voornamelijk in het verschil in de water-, glycerol-, fosfor- en methanolconcentraties (Schröder en Südekum, 1999).

De mogelijkheid om ongezuiverde, goedkopere GL-mengsels in te zetten in de rundveevoeding werd door Schröder en Südekum (1999) onderzocht bij stieren. Het rantsoen in die proef bestond uit 40 % graskuil, 50 % krachtvoeder en 10 % GL. Er werden GL-mengsels van verschillende zuiverheid toegediend, doch de totale hoeveelheid opgenomen zuivere GL was voor alle dieren gelijk. Er werd geen verschil gevonden in het effect van het rantsoen op diverse fermentatie- en verteringskenmerken bij verschillende zuiverheden van GL. Hieruit bleek dat ook de minder zuivere GL-mengsels goed toepasbaar zijn in de rundveevoeding. De gemiddelde energiewaarde van GL in de proef was 9,6 MJ NE<sub>L</sub> (± 1400 VEM/ kg DS). Naargelang de samenstelling (vast of vloeistof) en verschillende dichtheden kan dit omgerekend worden voor de diverse commercieel beschikbare vormen. Daarentegen meldde Drackley (2007) dat de energiewaarde van GL het beste kan vergeleken worden met de energiewaarde van maisgraan (± 1100 VEM/ kg DS). Er kan dan ook gesteld worden dat indien maisbijproducten de komende jaren te duur zouden worden, GL ter vervanging kan ingeschakeld worden, mits de correctie van de andere nutritionele aspecten van mais. De referentiewaarde voor NE<sub>L</sub> bij Dairy One ligt op 7,9-8,3 MJ per kg DS (Dairy One Cooperative Inc, Ithaca, persoonlijke mededeling). Deze waarde is vergelijkbaar met 1150 à 1200 VEM per kg DS en ligt met andere woorden tussen de 2 energiedichtheden van de hogervermelde auteurs.

Glycerol wordt in de pens gefermenteerd tot vluch-

tige vetzuren (VVZ). In oudere publicaties die handelen over de GL-fermentatie, wordt bijna steeds vermeld dat GL volledig gefermenteerd wordt tot propionaat (Garton *et al.*, 1961; Hobson en Mann, 1961; Johns, 1953). Iets recentere studies wijzen echter op een stijging van propionaat en acetaat (Wright, 1969) of een stijging van propionaat en butyraat (Clapperton en Czerkawski, 1972) na de toediening van GL aan schapen en runderen. Ten opzichte van PPG levert GL bij fermentatie minder glucogene nutriënten, omdat relatief meer butyraat en minder propionaat ontstaan (Linke *et al.*, 2004).

*In vitro* GL-fermentatie met pensvocht van koeien waarvan de pensflora aangepast is aan een voeding gesupplementeerd met GL, brengt een stijging van de propionaat- en butyraatproductie teweeg ten koste van acetaat (Rémond *et al.*, 1993). Kijora *et al.* (1998) toonden aan dat de pensflora zich wel degelijk aanpast aan de GL-supplementatie. Ze stelden vast dat het verdwijnen van het toegediende GL uit de pens na 7 dagen sneller verliep dan op dag 0. Schattingen van het verdwijnen van een dosis van 200 g GL lieten zien dat > 85% van het GL binnen de 2 uur in de pens verdween bij runderen die reeds aangepast waren aan een GL-supplementatie. In onderzoeken waar 15 tot 25% GL werd toegevoegd aan het rantsoen, was de meeste GL reeds na 6 uur verdwenen (Bergner *et al.*, 1995). Microbiologen hebben ontdekt dat *Selenomonas ruminantium* subsp. *lactilytica* en *anaerovibrio lipolytica* de belangrijkste bacteriën zijn die GL fermenteren (Rémond *et al.*, 1993).

Er zijn ook publicaties waarin aangenomen wordt dat een deel van het GL dat in de pens terecht komt, direct geabsorbeerd wordt alvorens het wordt gefermenteerd (Rémond *et al.*, 1993). Dit deel van het GL wordt in de lever gemetaboliseerd onder invloed van GL-kinase (Lin, 1977), het enzym dat zorgt voor de opname van GL in de triosefosfaatweg van de glycolysis/gluconeogenese. Deze weg staat biochemisch dicht bij glucose dan de weg die PPG doorloopt, waardoor het toedienen van GL metabool voordeliger is (Leng, 1970). Wanneer de vraag naar glucose hoog is, zoals in het geval van hoogproductieve lacterende koeien, is de eindbestemming van het geabsorbeerde GL enerzijds en van het door fermentatie gevormde propionaat anderzijds vermoedelijk wel gelijk.

Zoals reeds vermeld, wordt GL als veilig beschouwd voor het gebruik in diervoeder. Toch is het belangrijk dat het toegediende GL voldoende zuiver is want er is reeds onrust ontstaan over de aanwezigheid van mogelijke contaminanten in ruwe GL (Donkin en Doane, 2007). De aandacht gaat vooral naar de methanolgehalten in het GL, die lager dan 0,5% moeten zijn. Uit een recent rapport van de Food and Drug Administration (FDA, 2006) blijkt dat methanolspiegels hoger dan 150 ppm schadelijk zijn voor de diergezondheid. Goff en Horst (2001) verstrekten tot 2 of 3 liter GL aan koeien. Bij 3 liter traden bij nagenoeg alle koeien problemen op (onder andere incoördinatie). Schröder en Südekum (1999) concludeerden uit hun onderzoek dat zuiver GL veilig gesupplementeerd kan

worden tot een maximum van 10% van de totale droge stofopname (DS).

## BEÏNVLOEDING VAN DE DROGE STOFOPNAME

Enerzijds bieden glucogene voedersupplementen de mogelijkheid om door hun hoge energiedensiteit de energievoorziening in positieve zin te beïnvloeden, anderzijds bestaat de bezorgdheid dat beide producten na supplementatie een depressie veroorzaken in de DS-opname. Fisher *et al.* (1973) stelden reeds in 1973 vast dat 3 en 6 %-inmenging van PPG via het krachtvoeder niet leidde tot een verminderde DS-opname. Dit was wel het geval bij 9 %-inmenging. Bij *top dressing* (Miyoshi *et al.*, 2001) of na het innemen in een *total mixed ration* (TMR) (Dhiman *et al.*, 1993) leidde PPG door zijn onsmakelijkheid wel tot een verminderde DS-opname. Dhiman *et al.* (1993) deden hun experiment met dieren halverwege de lactatie. Christensen *et al.* (1997) zagen geen effect van 300 tot 400 ml PPG op de DS-opname van vaarzen en droogstaande koeien en dit zowel na toediening via een *drench* als via *top dressing* op het krachtvoeder of na het innemen in het TMR.

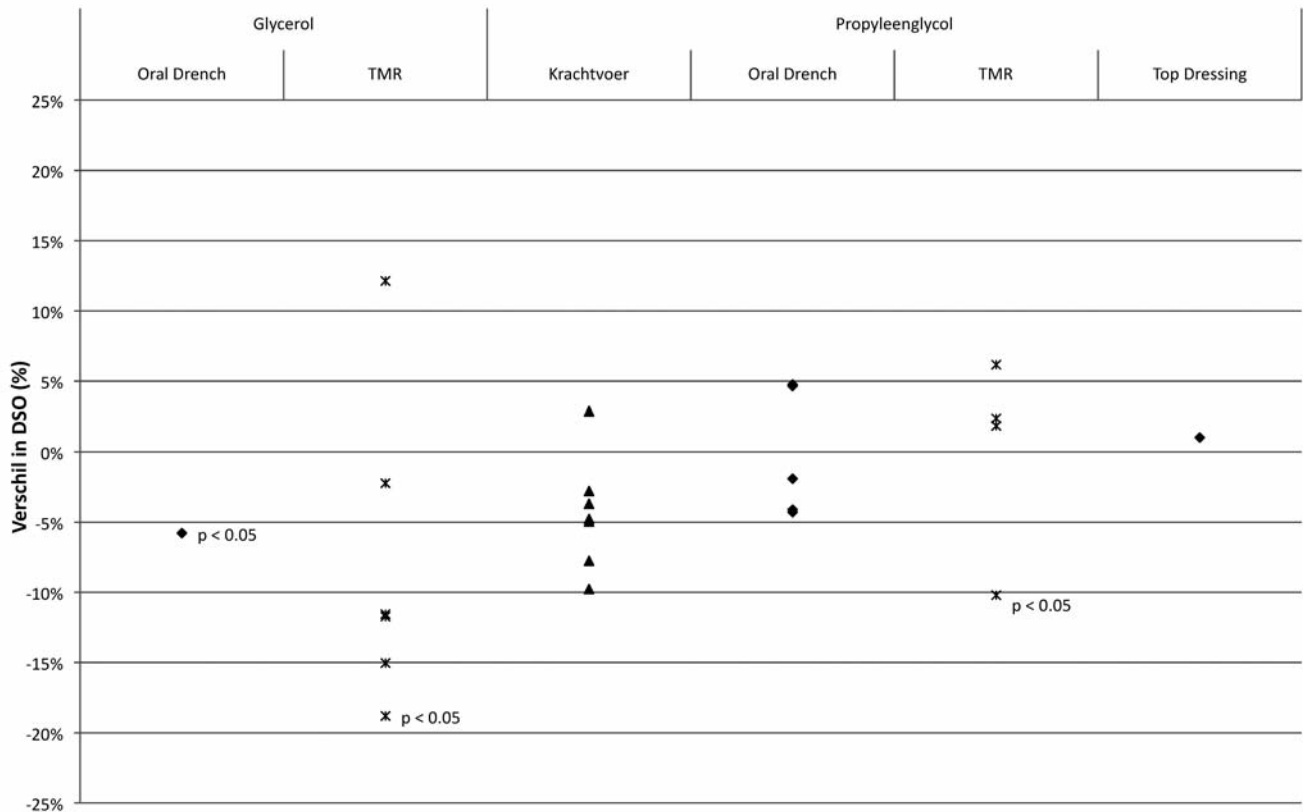
De meest effectieve manier om PPG toe te dienen, blijkt het *drenchen* (per oraal opgieten) of het vermengen van het product in een krachtvoeder te zijn (Miyoshi *et al.*, 2001) dat het beste melasse of andere smakelijke additieven bevat om de bittere smaak van het product te verdoezelen.

Uit het beperkte aantal studies dat uitgevoerd is omtrent het toedienen van PPG bij koeien die pas gekalfd hebben, blijkt dat de DS-opname niet gestimuleerd wordt (Fisher *et al.*, 1973; Miyoshi *et al.*, 2001; Pickett *et al.*, 2003). Vroeg in de lactatie is de DS-opname onderhevig aan tal van metabole signalen. Zo zou een gestegen insulinegehalte tengevolge van PPG-supplementatie een negatieve feedback kunnen uitoefenen op de DS-opname (Ingvarsen en Andersen, 2000).

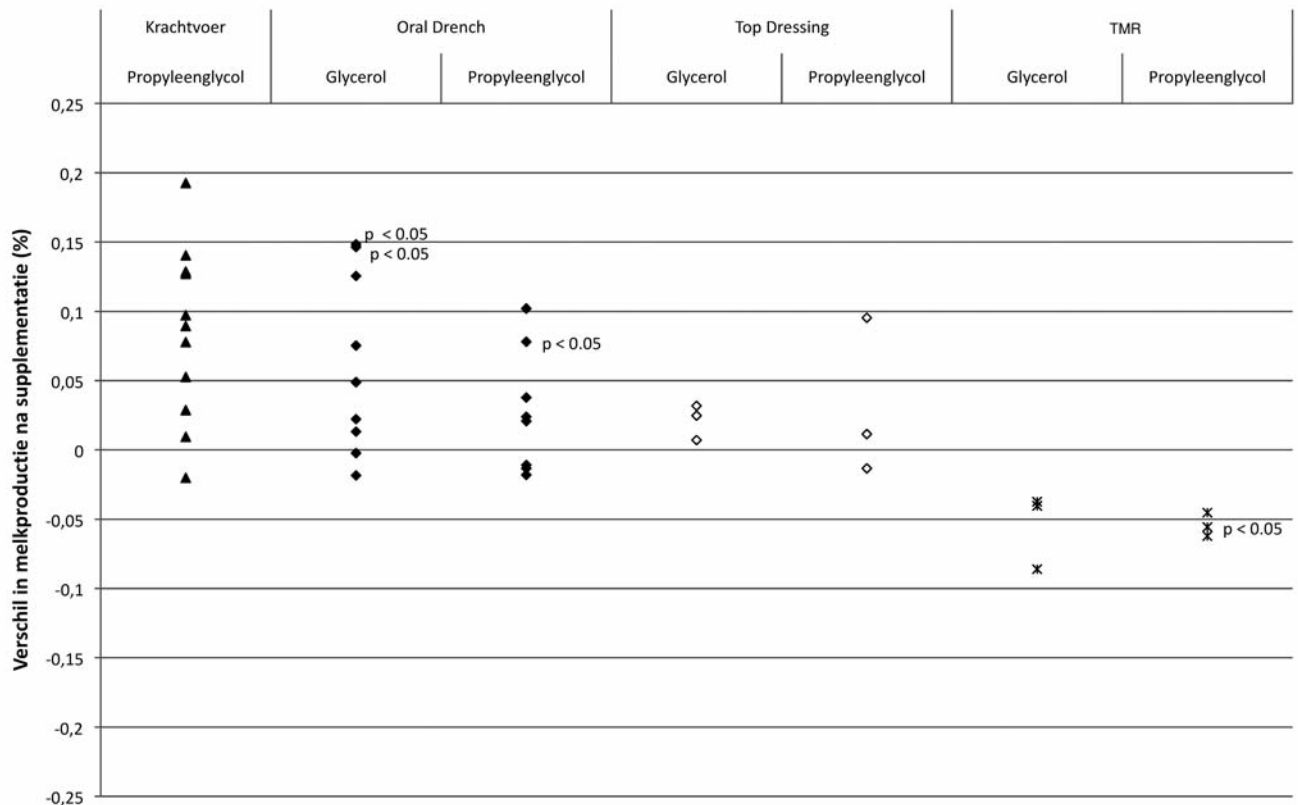
Nog beperkter zijn de studies van de DS-opname bij hoogproductief melkvee na een supplementatie met GL. Defrain *et al.* (2004) toonden een significante daling van de DS-opname aan bij het *pre partum* toedienen van 430 g GL. Deze daling van de DS-opname verdween *post partum*, hoewel de supplementatie niet gestopt werd. Bij een andere studie werd gebruikt gemaakt van stieren. Er werd GL gesupplementeerd tot 15 % van de dagelijkse DS-opname. De dieren die GL gesupplementeerd kregen, aten 1,1 kg GL en 1,4 kg zetmeel terwijl de dieren in de controlegroep slechts 2,1 kg zetmeel opnamen (Schröder en Südekum, 1999). De droge stofopname steeg aldus met 0,4 kg.

In 1 studie werden PPG en GL vergeleken zonder dat een controlegroep in de studie werd opgenomen (Staufenbiel *et al.*, 2007). In de droogstand werden 150 g PPG en 190 g GL gesupplementeerd via het TMR. Na het afkalven werd de hoeveelheid opgedreven tot respectievelijk 250 en 310 g op dag 100. Het enige significante verschil dat vastgesteld werd, was een hogere DS-opname in de GL-groep.

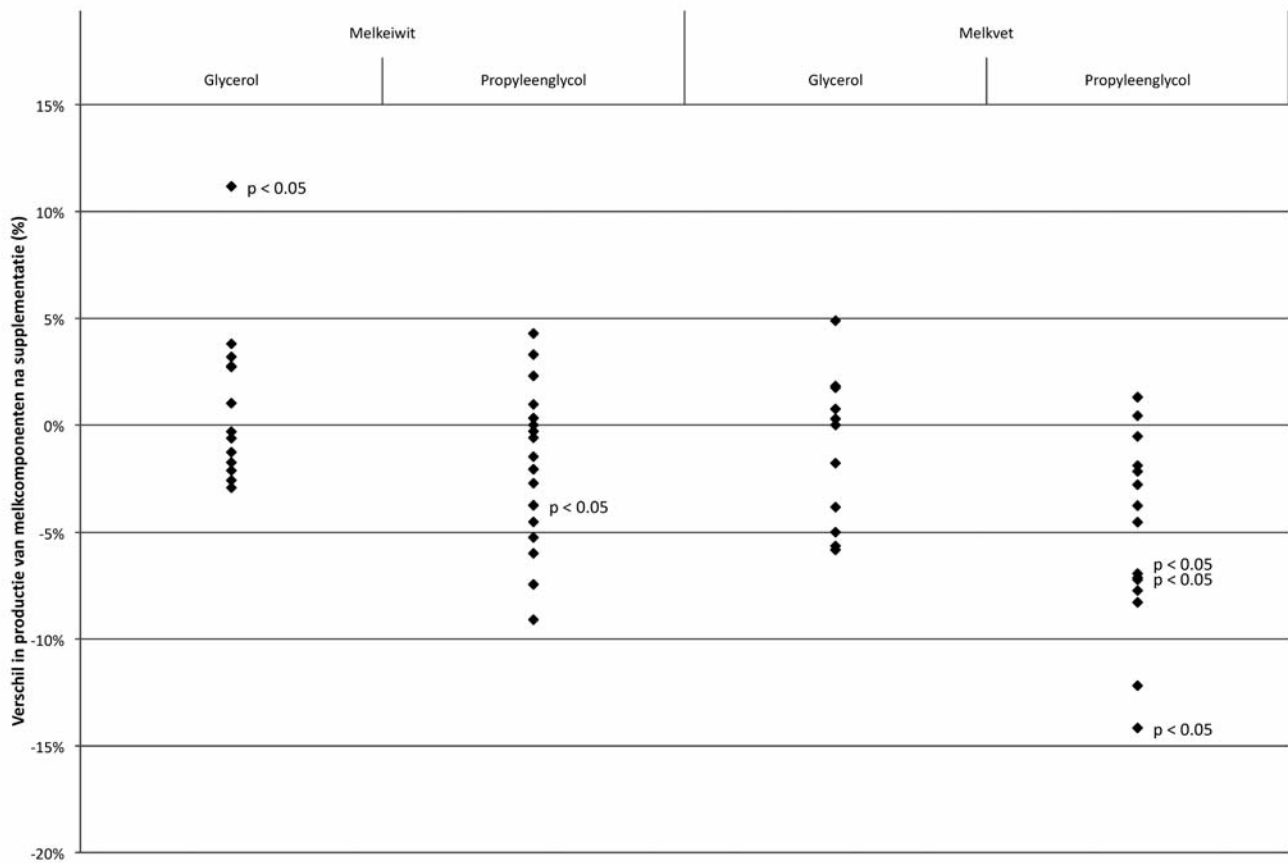
Figuur 3 geeft een overzicht van de tot nu toe gepubliceerde studies waarin de DS-opname gemeten



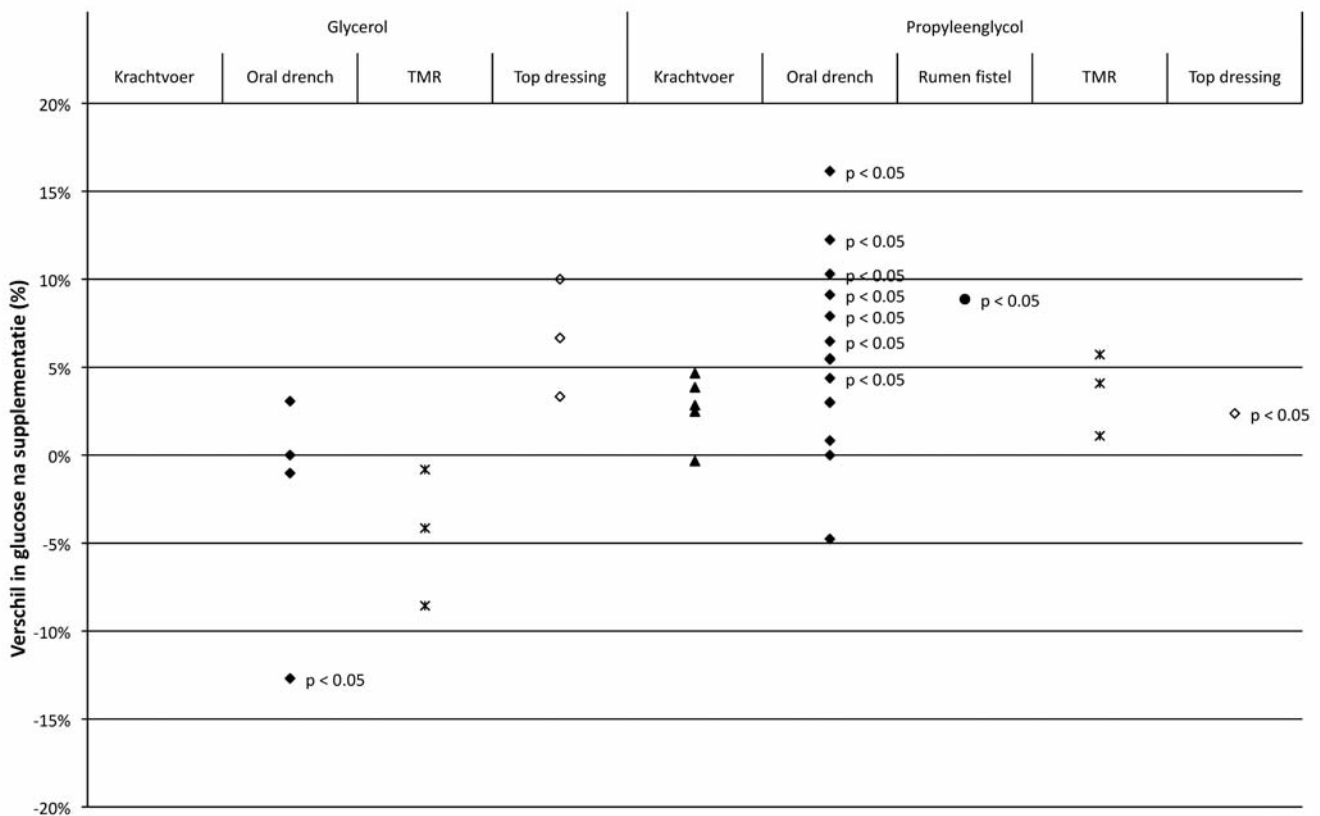
**Figuur 3.** Verschil (in %) in droge stofopname na supplementatie met propyleenglycol en glycerol bij de verschillende toedieningsvormen. De p-waarde van studies die geen significant verschil aantoonde, wordt niet weergegeven.



**Figuur 4.** Verschil in melkproductie na supplementatie (in %) met propyleenglycol en glycerol bij de verschillende toedieningsvormen. De p-waarde van studies die geen significant verschil aantoonde, wordt niet weergegeven.



**Figuur 5.** Verschil (in %) in productie van de melkvet en melkeiwit na supplementatie met propyleenglycol en glycerol bij de verschillende toedieningsvormen. De p-waarde van studies die geen significant verschil aantonden, wordt niet weergegeven.



**Figuur 6.** Verschil (in %) in plasmaglucoconcentratie *post partum* na supplementatie met propyleenglycol en glycerol bij de verschillende toedieningsvormen. De p-waarde van studies die geen significant verschil aantonden, wordt niet weergegeven.

werd na de supplementatie van PPG of GL aan melkvee *pre-* en/of *post partum*.

## DE MELKPRODUCTIE

Na de supplementatie met glucogene precursoren treedt er meestal geen duidelijke verandering op in de melkproductie. Enkele noemenswaardige trends zijn echter wel op te merken.

Koeien die gesupplementeerd worden met PPG rond het kalven of in de vroege lactatiefase vertonen ofwel geen verandering in de melkproductie ((Butler *et al.*, 2006; Emery *et al.*, 1964; Fisher *et al.*, 1973; Formigoni *et al.*, 1996; Hoedemaker *et al.*, 2004; Lucci *et al.*, 1998; Moallem *et al.*, 2007; Pickett *et al.*, 2003; Stokes en Goff, 2001; Studer *et al.*, 1993), ofwel een licht verbeterde melkproductie (Stokes en Goff, 2001). De reden waarom enkel Stokes en Goff (2001) een significante stijging van 7,8 % vonden, dient gezocht te worden in het feit dat in de meeste proeven de hoeveelheid PPG die gebruikt werd, niet in staat was om de energiedensiteit van het rantsoen in dergelijke mate te verhogen dat een stijging van de melkproductie kon worden vastgesteld (Nielsen en Ingvarsten, 2004). Een depressie van de DS-opname zou bovendien het effect van PPG op de melkproductie in veel gevallen maskeren.

Zoals uit Figuur 4 kan afgeleid worden, zijn de resultaten voor GL sterk vergelijkbaar met die voor PPG wat betreft de melkproductie. De meest significante resultaten werden behaald bij de als orale *drench* toegediende GL (Bodarski *et al.*, 2005). Een niet-significante melkproductiedaling werd geregistreerd bij de inmenging in het TMR (DeFrain *et al.*, 2004).

Bij het toedienen van PPG aan dieren in het midden van de lactatie daalt de melkproductie (Cozzi *et al.*, 1996; Dhiman *et al.*, 1993) of blijft ze ongewijzigd (Shingfield *et al.*, 2002b). Enkel Dhiman *et al.* (1993) stelden een significante daling vast die voornamelijk te wijten zou zijn aan een significante daling van de DS-opname die door hen werd vastgesteld (zie hoger). De PPG werd door deze auteurs toegediend via inmenging in het TMR-rantsoen.

De melkvet, -eiwit en -lactosegehalten blijven zowel bij het gebruik van PPG als van GL over het algemeen ongewijzigd (Figuur 5). Zoals vermeld bij de bespreking van Nielsen en Ingvarsten (2004) werd het melkvetgehalte in de proef van Fisher *et al.* (1973) significant gedrukt bij de toediening van 360 g PPG. Wanneer in dezelfde proef echter 500 g PPG toegediend werd, verdween deze melkvetdepressie (Fisher *et al.*, 1973). Een in de meeste proeven met PPG geziene trend naar een verminderd melkvetpercentage kan mogelijk verklaard worden door een verlaagd plasma *Non-Esterified Fatty Acid* (NEFA) gehalte, wat leidt tot een lagere NEFA-opname door de uier en een bijhorende verminderde melkvet synthese. Een tweede mogelijke verklaring voor het lagere melkvetpercentage zou de daling van de propionaat-acetaatverhouding in de pens kunnen zijn (Nielsen en Ingvarsten, 2004). Acetaat is immers een belangrijke precursor

voor de *de novo* productie van korte ketenvetzuren in de uier. Het beperkt aantal studies dat uitgevoerd is met de GL, hebben de trend naar een melkvetdaling nog niet kunnen bevestigen of ontcrachten.

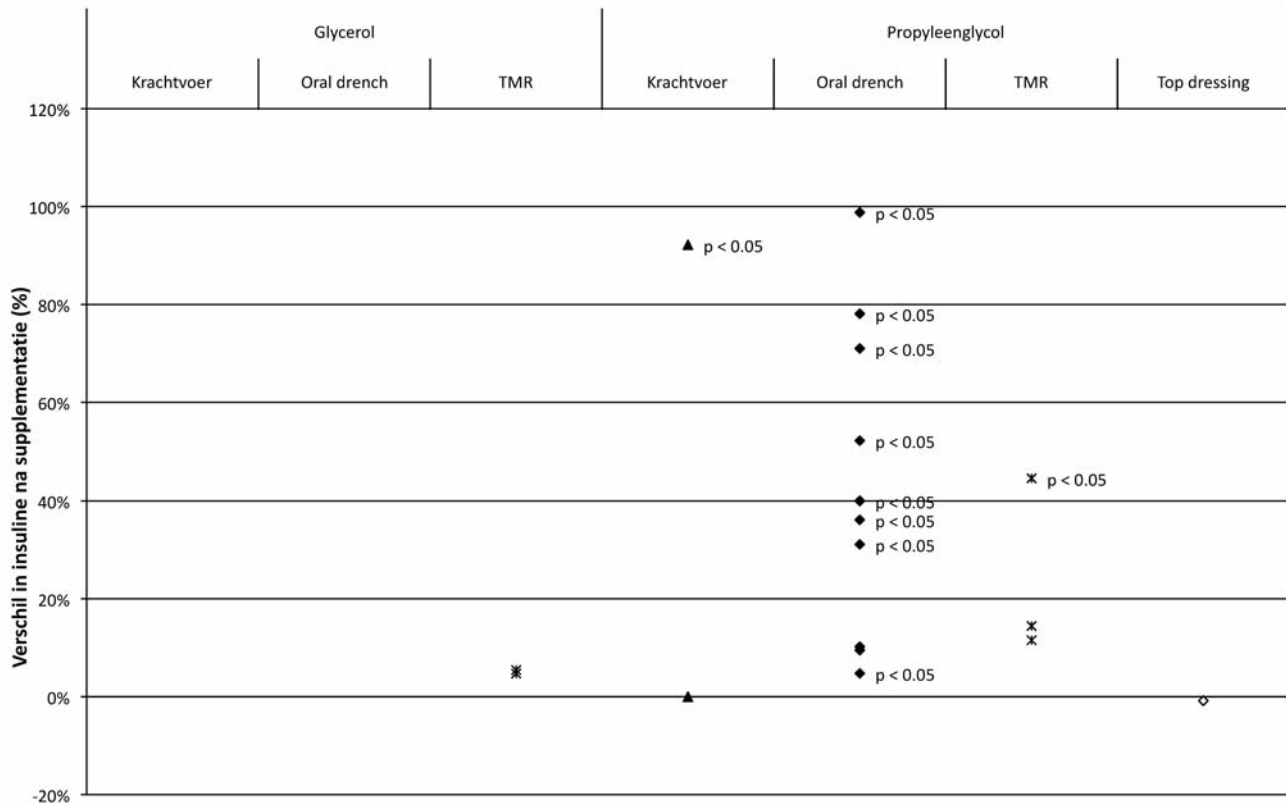
Het niet in staat zijn om de energiedensiteit sterk te verhogen door de eerder kleine hoeveelheden PPG of GL, zou ook een verklaring kunnen zijn voor het uitblijven van een effect op het eiwitgehalte (Nielsen en Ingvarsten, 2004; Overton *et al.*, 1999; Rémond *et al.*, 1991). Dit wordt bevestigd door Bodarski *et al.* (2005) die wel in staat waren de energiedensiteit van het rantsoen te verhogen bij de toediening van een grote hoeveelheid GL (630 g) en daardoor een stijging van het melkeiwitgehalte vaststelden. Dhiman *et al.* (1993) zagen naast een daling van de dagproductie ook een eiwitdaling bij de toediening van 688 g PPG. Deze proef gebeurde echter met dieren in het midden van de lactatie. Men zou nochtans kunnen verwachten dat bij een PPG- of GL-supplementatie minder aminozuren in de gluconeogenese ingeschakeld moeten worden, wat een hogere eiwitproductie ter hoogte van de melkklier zou kunnen toelaten (Nielsen en Ingvarsten, 2004). Reynolds *et al.* (1997) betwijfelen echter of een verminderd katabolisme van glutamine, glutamaat en asparaat wel leidt tot een verhoogde aanvoer van deze voor de melkproductie niet-limiterende aminozuren. De studie van Bodarski *et al.* (2005) was echter tegelijkertijd ook de enige studie met GL waarbij men in staat was een significant effect aan te tonen op het melkeiwitgehalte bij koeien in het begin van de lactatie.

Fisher *et al.* (1973) toonden een significante stijging van 0,2 % van het lactosegehalte aan bij een supplementatie met 495 g PPG per dag. Dit was echter niet zichtbaar bij een supplementatie van 178-360 g. Bij koeien in het midden van de lactatie is dit effect niet aanwezig bij hoeveelheden variërend van 200-400 g PPG (Cozzi *et al.*, 1996; Shingfield *et al.*, 2002b). Propyleenglycol beïnvloedt het lactosegehalte met andere woorden heel weinig. Dit is in overeenstemming met studies waarbij zetmeel, propionaat en glucose in de lebmaag geïnfuseerd werden (Dhiman *et al.*, 1993; Knowlton *et al.*, 1998). De over het algemeen weinig gewijzigde samenstelling van de melk zorgt ervoor dat ook voor energiegecorrigeerde melkproductie bij beide producten weinig noemenswaardige verschillen worden gezien.

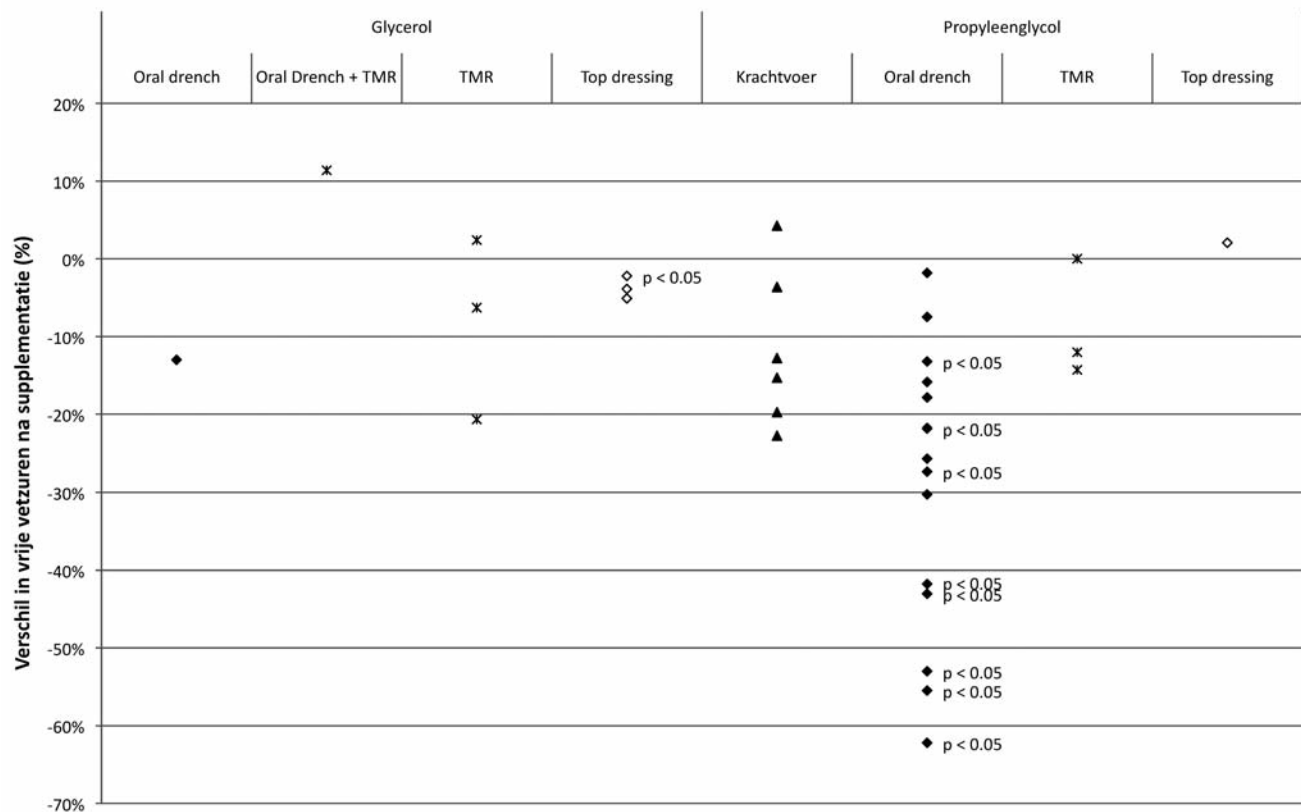
## METABOLE PARAMETERS VAN DE NEGATIEVE ENERGIEBALANS

### Het glucosemetabolisme

Het is reeds lang bewezen dat *drenchen* met PPG effectief is om de plasmagluucose bij melkvee te verhogen zoals weergegeven in Figuur 6 (Butler *et al.*, 2006; Grummer *et al.*, 1994; Johnson, 1954; Kristensen en Raun, 2007; Miyoshi *et al.*, 2001; Palmquist en Brunengraber, 1997; Shingfield *et al.*, 2002a). Het effect op het perifere insulinegehalte is echter meer uitgesproken en vertoont een positieve invloed na supplementatie (Figuur 7) (Butler *et al.*, 2006; Grummer



**Figuur 7.** Verschil (in %) in plasma-insulineconcentratie *post partum* na supplementatie met propyleenglycol en glycerol bij de verschillende toedieningsvormen. De p-waarde van studies die geen significant verschil aantoonen, wordt niet weergegeven.



**Figuur 8.** Verschil (in %) in plasma-vrije vetzurenconcentratie na supplementatie met propyleenglycol en glycerol bij de verschillende toedieningsvormen. De p-waarde van studies die geen significant verschil aantoonen, wordt niet weergegeven.



*et al.*, 1994; Miyoshi *et al.*, 2001). Dit kan deels verklaard worden door het feit dat het seruminsulinegehalte piekt alvorens glucose dat doet (Grummer *et al.*, 1994; Studer *et al.*, 1993). De gestegen insulinespiegels onderdrukken op die manier een mogelijke stijging van de serumglucose (Brockman en Laarveld, 1986). Een tweede mogelijke verklaring waarom vaker een effect op het insulinegehalte dan op het glucosegehalte gezien wordt, kan de directe stimulatie van de insulinesecretie in de pancreas zijn door PPG zelf (Nielsen en Ingvarsten, 2004), door het propionaat dat gevormd wordt vanuit PPG (Brockman, 1982) of door de PPG-intermediären, lactaat en pyruvaat (Nielsen en Ingvarsten, 2004). Desondanks werd in meerdere proeven (Butler *et al.*, 2006; Grummer *et al.*, 1994; Johnson, 1954; Kristensen en Raun, 2007; Miyoshi *et al.*, 2001; Palmquist en Brunenraber, 1997; Shingfield *et al.*, 2002a) ook een significant gestegen glucosegehalte geconstateerd na PPG-supplementatie.

In zowel de studie van Palmquist en Brunenraber als die van Kristensen en Raun (Kristensen en Raun, 2007; Palmquist en Brunenraber, 1997) kon ondanks de gestegen glucosegehalten in het plasma, geen verschil tussen hepatische glucosetoevoer en -afvoer gevonden worden. Dit zou een aanwijzing kunnen zijn dat het gestegen plasmaglucosegehalte een gevolg is van een verminderde glucoseopname door de perifere weefsels, ondanks de gelijklopende stijging van het perifere insulinegehalte, indicatief voor een geïnduceerde insulineresistentie.

### *Non-esterified fatty acids*

De hierboven vermelde stijging van zowel de perifere insuline- als glucosegehalten zou een bewijs kunnen zijn dat de dieren die PPG gesupplementeerd krijgen, een minder ernstige NEB ervaren. Om dit te bewijzen, is het van het grootste belang dat ook de NEFA-gehalten in het bloed bepaald worden. Deze zijn namelijk een rechtstreekse indicator voor de mate waarin een hoogproductieve melkkoe haar lichaamsvet mobiliseert teneinde haar negatieve energiestatus te corrigeren (Drackley *et al.*, 2001). In Figuur 8 is duidelijk te zien dat het *drenchen* met PPG opnieuw de enige toedieningswijze is die tot op heden effectief is gebleken bij het significant verminderen van deze vetmobilisatie *post partum*. Alle andere toedieningswijzen van PPG vertonen slechts een trend die wijst op een gedaald NEFA-gehalte ten opzichte van het NEFA-gehalte van de controlegroep.

Miyoshi *et al.* (2001) stelden een trend vast naar een betere energiebalans na het dagelijks *drenchen* met 518 g PPG vanaf dag 7 tot dag 42 dagen *post partum*. De energiebalans van de vaarzen bleef onveranderd, wat kan verklaard worden door het feit dat vaarzen een lagere melkproductie hebben en aldus minder onderhevig zijn aan extreme energietekorten *post partum* (Grummer, 1999). Formigoni *et al.* (1996) en Lucci *et al.* (1998) zagen dat de koeien die gesupplementeerd werden met PPG minder conditie leken te verliezen in het begin van de lactatie dan de andere koeien maar

ook hier kon verder geen verschil in energiebalans vastgesteld worden.

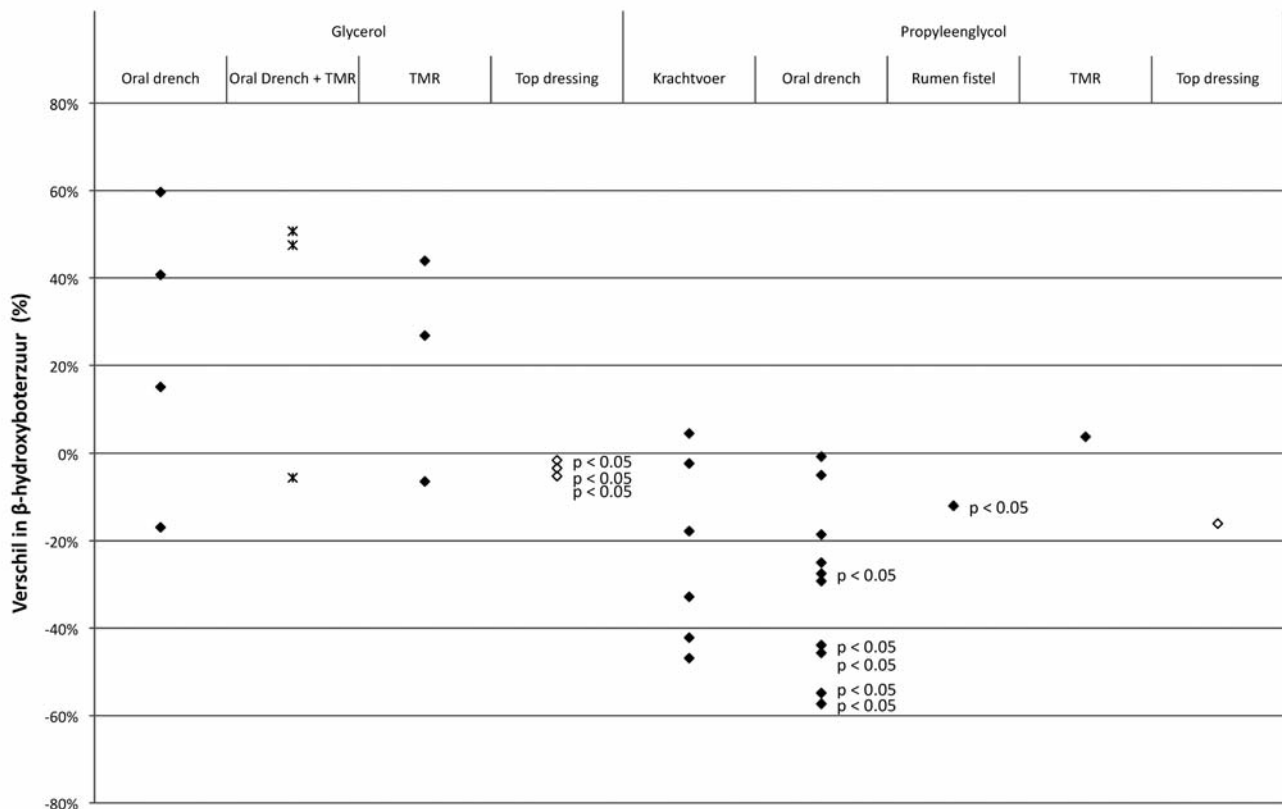
### **Bètahydroxyboterzuur (BHB)**

De toediening van glucogene precursoren zou zowel klinische als subklinische ketonemie kunnen voorkomen. Om dit bijzonder interessant gegeven verder te kunnen onderbouwen, is het van belang het verloop van de perifere BHB-concentratie te evalueren. Zoals vermeld door Bossaert *et al.* (2008) verschilt de grenswaarde tussen subklinische en klinische ketonemie naargelang de publicatie tussen 1,2 mmol/l (Enjalbert *et al.*, 2001; Nielen *et al.*, 1994) en 1,4 mmol/l (Geishauser *et al.*, 2000; Hagmuller en Aurich, 2004). Bij de proeven met PPG en GL die tot nu toe gepubliceerd werden, is enkel PPG in staat gebleken om de BHB-concentratie significant te doen dalen, wat duidt op een beschermend effect van PPG (Figuur 9). Wat GL betreft, werd tot nu toe geen significant verschil aangetoond in de BHB-concentratie na supplementatie. Bijna steeds werd, zoals in Figuur 9 wordt aangegeven, een niet-significante stijging waargenomen in plaats van een daling. Dit kan verklaard worden doordat in de meeste proeven met GL-supplementatie, het boterzuurgehalte in het pensvocht significant steeg. Het gevormde boterzuur wordt bij de opname door de penswand omgezet in BHB, wat de hogere perifere concentratie verklaart (Rémond *et al.*, 1991). Voor wat het voorkomen van subklinische en klinische ketonemie betreft, is het beschermend effect van GL aldus nog niet bewezen.

### BESLUIT

Glucogene precursoren zijn reeds meer dan een halve eeuw effectief gebleken in de behandeling van klinische ketonemie bij hoogproductief melkvee. Uit de meest recente literatuur blijkt dat zowel PPG als GL via gelijklopende stappen ingeschakeld kan worden in de gluconeogenese in de lever, ook al worden er meldingen gemaakt dat GL metabool gezien dichter bij glucose staat dan PPG. Een wetenschappelijk bewijs van dit metabole voordeel van GL voor hoogproductief melkvee in de transitieperiode, werd tot op heden nog niet geleverd. Wanneer de literatuur kritisch wordt doorlopen blijkt bovendien dat het inschakelen van glucogene precursoren ter preventie van (sub)klinische ketonemie niet éénduidig effectief is gebleken. Significante verbeteringen in metabole parameters van de negatieve energiebalans *post partum* gemeten, werden voornamelijk gezien in de met PPG *gedrenchte* koeien, en dit gedurende een periode van 35 dagen na het kalven aan een dosering van ongeveer 500 ml per dag. De inzetbaarheid van glucogene producten is op dat moment zowel economisch als praktisch gezien niet meer interessant en hun preventieve werking kan dan ook sterk gerelativeerd worden.

Snellere en efficiëntere *cow side tests* voor het opsporen van subklinische ketonemie zullen het in de toekomst mogelijk maken om gericht koeien op te spo-



**Figuur 9.** Verschil (in %) in plasma  $\beta$ -hydroxyboterzuurconcentratie na supplementatie met propyleenglycol en glycerol bij de verschillende toedieningsvormen. De p-waarde van studies die geen significant verschil aantoonde, wordt niet weergegeven.

ren die lijden aan (sub)klinische ketonemie en baat hebben bij de supplementatie met glucogene precursoren. Op die manier kan afgestapt worden van het preventief supplementeren van glucogene precursoren aan alle koeien in de transitieperiode. Bij sommige toedieningsvormen (onder andere bij het toedienen via TMR) treedt bovendien eerder een daling van de DS-opname op, wat in de vroege *post partum* fase absoluut te vermijden is bij hoogproductief melkvee. Het doelgerichte toedienen van glucogene precursoren aan de behoeftige dieren zal op termijn niet alleen economisch gunstigere resultaten opleveren door een gedaald verbruik van glucogene precursoren maar mogelijk ook betere productieresultaten geven door een hogere DS-opname in het begin van de lactatie.

## REFERENTIES

- Bergner H., Kijora C., Ceresnakova Z., Szakacs J. (1995). In vitro investigation on the glycerol transformation by rumen microbes. *Archiv für Tierernährung* 48, 245-256.
- Bodarski R., Wartecki T., Bommer F., Gosiewski S. (2005). The changes of metabolic status and lactation performance in dairy cows under feeding TMR with glycerol (glycerol) supplement at periparturient period. *Journal of Polish Agricultural Universities* 8, 22.
- Bossaert P., Cools S., Van Loo H., Leroy J., de Kruif A., Opsomer G. (2008). Pathogenesis in clinical ketonemia practice and fatty liver in high-productive dairy cows. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 77, 283-289.
- Brockman R.P. (1982). Insulin and glucagon-responses in plasma to intraportal infusions of propionate and butyrate in sheep (*Ovis-Aries*). *Comparative Biochemistry and Physiology* 73, 237-238.
- Brockman R.P., Laarveld B. (1986). Hormonal-regulation of metabolism in ruminants - a review. *Livestock Production Science* 14, 313-334.
- Butler S.T., Pelton S.H., Butler W.R. (2006). Energy balance, metabolic status, and the first post partum ovarian follicle wave in cows administered propylene glycol. *Journal of Dairy Science* 89, 2938-2951.
- Christensen J.O., Grummer R.R., Rasmussen F.E., Bertics S.J. (1997). Effect of method of delivery of propylene glycol on plasma metabolites of feed-restricted cattle. *Journal of Dairy Science* 80, 563-568.
- Clapperton J.L., Czerkawski J.W. (1972). Metabolism of propane-1-2-diol infused into rumen of sheep. *British Journal of Nutrition* 27, 553-560.
- Cools S., Bossaert P., Van Loo H., de Kruif A., Opsomer G. (2008). De behandeling en preventie van ketonemie en leververvetting bij hoogproductieve melkkoeien. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 77, 363-375.
- Cozzi G., Berzaghi P., Gottardo F., Gabai G., Andrighetto I. (1996). Effects of feeding propylene glycol to mid-lactating dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 64, 43-51.
- DeFrain J.M., Hippen A.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, 4195-4206.
- Dhiman T.R., Cadorniga C., Satter L.D. (1993). Protein and energy supplementation of high alfalfa silage diets during early lactation. *Journal of Dairy Science* 76, 1945-1959.
- Donkin S.S., Doane P. (2007). Glycerol as a feed ingredient

- in dairy rations. In: *Proceedings of the Tri-State Dairy Nutrition Conference*. Fort Wayne, <http://tristatedairy.osu.edu/Proceedings%202007/Donkin%20paper.pdf>.
- Dorman D.C., Haschek W.M. (1991). Fatal propylene-glycol toxicosis in a horse. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 198, 1643-1644.
- Drackley J.K. (2007). Opportunities for glycerol use in dairy diets. In: *Illini DairyNet Papers* <http://www.livestock-trail.uiuc.edu/uploads/dairyNet/papers/2007%20dd%20Glycerin.pdf>.
- Drackley J.K., Overton T.R., Douglas G.N. (2001). Adaptations of glucose and long-chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. *Journal of Dairy Science* 84, E100-E112.
- Emery R.S., Brown L.D., Blank G.N., Burg N. (1964). Detection occurrence + prophylactic treatment of borderline ketosis with propylene glycol feeding. *Journal of Dairy Science* 47, 1074-1079.
- Emery R.S., Brown R.E., Black A.L. (1967). Metabolism of DL-1 2-propanediol-2-14C in a lactating cow. *Journal of Nutrition* 92, 348-356.
- Enjalbert F., Nicot M.C., Baourthe C., Moncoulon R. (2001). Ketone bodies in milk and blood of dairy cows: Relationship between concentrations and utilization for detection of subclinical ketosis. *Journal of Dairy Science* 84, 583-589.
- Food and Drug Administration, Code of Federal Regulations*, 21CFR582.1320, Title 21, Vol. 6, 2006. 21CFR582.1320.
- Fisher L.J., Erfle J.D., Lodge G.A., Sauer F.D. (1973). Effects of propylene glycol or glycerol supplementation of the diet of dairy cows on feed intake, milk yield and composition, and incidence of ketosis. *Canadian Journal of Animal Science* 53, 289-296.
- Formigoni A., Cornil M.C., Prandi A., Mordenti A., Rossi A., Portetelle D., Renaville R. (1996). Effect of propylene glycol supplementation around parturition on milk yield, reproduction performance and some hormonal and metabolic characteristics in dairy cows. *Journal of Dairy Research* 63, 11-24.
- Garton G.A., Vioque E., Lough A.K. (1961). Glyceride hydrolysis and glycerol fermentation by sheep rumen contents. *Journal of General Microbiology* 25, 215-225.
- Geishauser T., Leslie K., Tenhag J., Bashiri A. (2000). Evaluation of eight cow-side ketone tests in milk for detection of subclinical ketosis in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 83, 296-299.
- Goff J.P., Horst R.L. (1997). Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *Journal of Dairy Science* 80, 1260-1268.
- Goff J.P., Horst R.L. (2001). Oral glycerol as an aid in the treatment of ketosis/fatty liver complex. *Journal of Dairy Science* 84, 153.
- Grummer R.R. (1999). Energy and protein nutrition of the transition dairy cow. In: *Proceedings of the Dairy Nutritional Conference*. Wisconsin, [www.wisc.edu/dysci/uwex/nutritn/pubs/NutrAndMgt/energya0.pdf](http://www.wisc.edu/dysci/uwex/nutritn/pubs/NutrAndMgt/energya0.pdf).
- Grummer R.R., Winkler J.C., Bertics S.J., Studer V.A. (1994). Effect of propylene-glycol dosage during feed restriction on metabolites in blood of prepartum Holstein heifers. *Journal of Dairy Science* 77, 3618-3623.
- Hagmuller W., Aurich J.E. (2004). Subclinical ketosis: sensitivity and specificity of the Ketostix((R)) urine test. *Praktischer Tierarzt* 85, 266-272.
- Hindhede J. (1976). Propylenglykol til malkekøer omkring kælvning. *Meddelelse* 146, Statens Husdyrbrugsforsøg, 4.
- Hobson P.N., Mann S.O. (1961). Isolation of glycerol-fermenting and lipolytic bacteria from rumen of sheep. *Journal of General Microbiology* 25, 227-240.
- Hoedemaker M., Prange D., Zerbe H., Frank J., Daxenberger A., Meyer H.H.D. (2004). Periparturient propylene glycol supplementation and metabolism, animal health, fertility, and production in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 87, 2136-2145.
- Ingvartsen K.L., Andersen J.B. (2000). Integration of metabolism and intake regulation: A review focusing on periparturient animals. *Journal of Dairy Science* 83, 1573-1597.
- Johns A.T. (1953). Fermentation of glycerol in the rumen of sheep. *New Zealand Journal of Science and Technology* 35, 262.
- Johnson R.B. (1954). The treatment of ketosis with glycerol and propylene glycol. *Cornell Veterinarian* 44, 6-21.
- Kijora C., Bergner H., Gotz K.P., Bartelt J., Szakacs J., Sommer A. (1998). Research note: investigation on the metabolism of glycerol in the rumen of bulls. *Archiv für Tierernährung* 51, 341-348.
- Knowlton K.F., Dawson T.E., Glenn B.P., Huntington G.B., Erdman R.A. (1998). Glucose metabolism and milk yield of cows infused abomasally or ruminally with starch. *Journal of Dairy Science* 81, 3248-3258.
- Kristensen N.B., Raun B.M.L. (2007). Ruminant and intermediary metabolism of propylene glycol in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 90, 4707-4717.
- Leng R.A. (1970). Glucose synthesis in ruminants. *Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine* 14, 209-260.
- Lin E.C.C. (1977). Glycerol utilization and its regulation in mammals. *Annual Review of Biochemistry* 46, 765-795.
- Linke P.L., DeFrain J.M., Hippen A.R., Jardon P.W. (2004). Ruminant and plasma responses in dairy cows to drenching or feeding glycerol. *Journal of Dairy Science* 87, 343.
- Lucci C.S., Fonseca L.F., Rodrigues P.H.M., Santos M.V., Lima A.P. (1998). Supplementation of propylene glycol to dairy cows in periparturient period: effects on body condition score, milk yield and first estrus postpartum. *Journal of Dairy Science* 81, 321.
- Maplesden D.C. (1954). Propylene glycol in the treatment of ketosis. *Canadian Journal of Comparative Medicine and Veterinary Science* 18, 287.
- Miyoshi S., Pate J.L., Palmquist D.L. (2001). Effects of propylene glycol drenching on energy balance, plasma glucose, plasma insulin, ovarian function and conception in dairy cows. *Animal Reproduction Science* 68, 29-43.
- Moallem U., Katz M., Arieli A., Lehrer H. (2007). Effects of periparturient propylene glycol or fats differing in fatty acid profiles on feed intake, production, and plasma metabolites in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 90, 3846-3856.
- Nielen M., Aarts M.G.A., Jonkers A.G.M., Wensing T., Schukken Y.H. (1994). Evaluation of 2 cow-side tests for the detection of subclinical ketosis in dairy-cows. *Canadian Veterinary Journal* 35, 229-232.
- Nielsen N.I., Ingvartsen K.L. (2004). Propylene glycol for dairy cows - a review of the metabolism of propylene glycol and its effects on physiological parameters, feed intake, milk production and risk of ketosis. *Animal Feed Science and Technology* 115, 191-213.
- Overton T.R. (1998). Substrate utilization for hepatic gluconeogenesis in the transition dairy cow. In: *Proceedings of the 1998 Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers*, 237-246.

- Overton T.R., Drackley J.K., Ottemann-Abbamonte C.J., Beaulieu A.D., Emmert L.S., Clark J.H. (1999). Substrate utilization for hepatic gluconeogenesis is altered by increased glucose demand in ruminants. *Journal of Animal Science* 77, 1940-1951.
- Palmquist D.L., Brunengraber H. (1997). Role of 1, 2 propanediol in ruminant glucose metabolism. In: K. J. McCracken, E. F. Unsworth en A. R. G. Wylie (editors). *Energy Metabolism of Farm Animals*. CAB International, Wallingford, p. 115-118.
- Pickett M.M., Piepenbrink M.S., Overton T.R. (2003). Effects of propylene glycol or fat drench on plasma metabolites, liver composition, and production of dairy cows during the periparturient period. *Journal of Dairy Science* 86, 2113-2121.
- Raun B.M.L., Kristensen N.B., Harmon D.L. (2004). Splanchnic metabolism of propylene glycol infused into the jugular vein of steers under washed rumen conditions. *Journal of Animal and Feed Sciences* 13, 331-334.
- Rémond B., Rouel J., Ollier A. (1991). Effet de l'addition de glycérol dans la ration des vaches laitières sur leur production et sur quelques paramètres de leur métabolisme. *Animal Research* 40, 59-66.
- Rémond B., Souday E., Jouany J.P. (1993). In vitro and in vivo fermentation of glycerol by rumen microbes. *Animal Feed Science and Technology* 41, 121-132.
- Reynolds C.K., Sutton J.D., Beever D.E. (1997). Effects of feeding starch to dairy cattle on nutrient availability and production. *Recent Advances in Animal Nutrition*, 105-134.
- Schröder A., Südekum K.H. (1999). Glycerol as a by-product of biodiesel production in diets for ruminants, 26-29. In: *Proceedings of the 10th International Rapeseed Congress: New Horizons for an Old Crop*. Canberra, <http://www.regional.org.au/au/gcirc/1/241.htm>.
- Shingfield K.J., Jaakkola S., Huhtanen P. (2002a). Effect of forage conservation method, concentrate level and propylene glycol on diet digestibility, rumen fermentation, blood metabolite concentrations and nutrient utilisation of dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 97, 1-21.
- Shingfield K.J., Jaakkola S., Huhtanen P. (2002b). Effect of forage conservation method, concentrate level and propylene glycol on intake, feeding behaviour and milk production of dairy cows. *Animal Science* 74, 383-397.
- Staufenbiel R., Engelhard T., Meyer A., Kanitz W. (2007). Comparison of the metabolic effects of propylene glycol and glycerine in high-producing cows in preventing ketosis, 166. In: *Proceedings of the 13th International Conference on Production Diseases in Farm Animals*.
- Stewart C., Flint H., Bryant M. (1997). The rumen bacteria. In: P. N. Hobson (editors). *The Rumen Microbial Ecosystem*. Elsevier Applied Science, London and New York, p. 21-76.
- Stokes S.R., Goff J.P. (2001). Evaluation of calcium propionate and propylene glycol administered into the esophagus at calving. *Animal Science* 17, 115-122.
- Studer V.A., Grummer R.R., Bertics S.J., Reynolds C.K. (1993). Effect of prepartum propylene-glycol administration on periparturient fatty liver in dairy-cows. *Journal of Dairy Science* 76, 2931-2939.
- van Knegsel A.T.M., van den Branda H., Dijkstra J., Tamminga S., Kemp B. (2005). Effect of dietary energy source on energy balance, production, metabolic disorders and reproduction in lactating dairy cattle. *Reproduction Nutrition Development* 45, 665-688.
- Veltman S., Schoenberg T., Switzenbaum M.S. (1998). Alcohol and acid formation during the anaerobic decomposition of propylene glycol under methanogenic conditions. *Biodegradation* 9, 113-118.
- Wright D.E. (1969). Fermentation of glycerol by rumen micro-organisms. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 12, 281-286.