

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ**  
**ESCOLA DE CIÊNCIAS DA VIDA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**DEIVID RONI RIBEIRO**

**AVALIAÇÃO PRODUTIVA DE VACAS LEITEIRAS ALIMENTADAS COM UREIA  
PROTEGIDA POR NANOPARTÍCULAS PROTEICAS EM SUBSTITUIÇÃO  
PARCIAL AO FARELO DE SOJA**

*Productive evaluation of dairy cows fed with protein nanoparticle protected urea in  
partial replacement of soybean meal*

**CURITIBA**  
**2016**

**DEIVID RONI RIBEIRO**

**AVALIAÇÃO PRODUTIVA DE VACAS LEITEIRAS ALIMENTADAS COM UREIA  
PROTEGIDA POR NANOPARTÍCULAS PROTEICAS EM SUBSTITUIÇÃO  
PARCIAL AO FARELO DE SOJA**

*Productive evaluation of dairy cows fed with protein nanoparticle protected urea in  
partial replacement of soybean meal*

Dissertação apresentada ao Programa  
de Pós-Graduação em Ciência Animal,  
área de concentração Saúde,  
Tecnologia e Produção Animal, da  
Escola de Ciências da Vida da  
Pontifícia Universidade Católica do  
Paraná, para obtenção do título de  
Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Cláudia Turra Pimpão

**CURITIBA**

**2016**



Pontifícia Universidade Católica do Paraná  
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal  
Câmpus Curitiba

**PUCPR**  
GRUPO MARISTA

**ATA Nº 0096 E PARECER FINAL DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO  
EM CIÊNCIA ANIMAL DO ALUNO DEIVID RONI RIBEIRO**

Aos vinte dias do mês de setembro do ano de dois mil e dezesseis, às 13:30 horas, realizou-se na sala 221 da Pós-Graduação, 2º andar, Bloco Acadêmico, Escola de Negócios da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, localizada no Campus de Curitiba, Rua Imaculada Conceição, nº 1155, Prado Velho – Curitiba – PR, a sessão pública de defesa da Dissertação do mestrando Deivid Roni Ribeiro, intitulada: **“AVALIAÇÃO PRODUTIVA DE VACAS LEITEIRAS ALIMENTADAS COM UREIA PROTEGIDA POR NANOPARTÍCULAS PROTEICAS EM SUBSTITUIÇÃO PARCIAL AO FARELO DE SOJA”**. O mestrando concluiu os créditos exigidos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, segundo os registros constantes na secretaria do Programa. Os trabalhos foram conduzidos pela Professora orientadora e Presidente da banca, Dra. Cláudia Turra Pimpão (PUCPR), auxiliada pelos Professores Doutores Javier Burchard Señoret (PUCPR) e Rodrigo de Almeida (UFPR). Procedeu-se à exposição da Dissertação, seguida de sua arguição pública e defesa. Encerrada a fase, os examinadores expediram o parecer final sobre a Dissertação, que nos termos do Artigo 53 do Regulamento deste Programa de Pós-Graduação, foi considerada

APROVADO

**Profa. Dra. Cláudia Turra Pimpão (Presidente)**

**Assinatura** \_\_\_\_\_

**Prof. Dr. Javier Burchard Señoret (PUCPR)**

**Assinatura** \_\_\_\_\_

**Prof. Dr. Rodrigo de Almeida (UFPR)**

**Assinatura** \_\_\_\_\_

Proclamado o resultado, a Presidente da Banca Examinadora encerrou os trabalhos, e para que tudo conste, eu Caroline Nocera Bertton, confiro e assino a presente ata juntamente com os membros da Banca Examinadora.

Curitiba, 20 de setembro de 2016.

**Profa. Dra. Renata Ernland Freitas de Macedo**

**Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal**

**Caroline Nocera Bertton**

**Secretária do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal**

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                             | Página      |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>DEDICATÓRIA.....</b>                                                                                                                                     | <b>v</b>    |
| <b>AGRADECIMENTOS .....</b>                                                                                                                                 | <b>vi</b>   |
| <b>FORMATO DA DISSERTAÇÃO .....</b>                                                                                                                         | <b>vii</b>  |
| <b>RESUMO GERAL .....</b>                                                                                                                                   | <b>viii</b> |
| <b>ABSTRACT .....</b>                                                                                                                                       | <b>ix</b>   |
| <b>CAPÍTULO 1 .....</b>                                                                                                                                     | <b>1</b>    |
| INTRODUÇÃO .....                                                                                                                                            | 1           |
| <b>CAPÍTULO 2 .....</b>                                                                                                                                     | <b>15</b>   |
| ARTIGO (Avaliação produtiva de vacas leiteiras alimentadas com ureia protegida por nanopartículas proteicas em substituição parcial ao farelo de soja)..... | 15          |
| <b>CAPÍTULO 3 .....</b>                                                                                                                                     | <b>41</b>   |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS .....                                                                                                                                  | 41          |
| <b>ANEXO .....</b>                                                                                                                                          | <b>42</b>   |

A Deus, criador do Universo.  
Aos meus pais, Roni e Marlene. Exemplos de vida, bondade, tolerância e  
companheirismo.  
À minha namorada, Amanda. Incansável companheira de pesquisa e de vida.

Dedico esse trabalho.

## AGRADECIMENTOS

A Deus por me guiar nos momentos de maior necessidade.

Aos meus pais, Roni e Marlene. Por toda a paciência, carinho e apoio dispensados à mim, durante toda a minha vida.

À minha namorada, Amanda. Pelas incansáveis horas de estudo, a imensurável ajuda em todas as etapas dessa pesquisa e pelo companheirismo de sempre. Te amo!

À toda minha família, em especial às minha irmãs Kauane e Francieli, pela compreensão durante o desenvolvimento dessa pesquisa. Kauane, sua ajuda nas coletas foi imprescindível. Muito obrigado!

À minha orientadora, professora Cláudia Turra Pimpão. Pela amizade e oportunidades oferecidas. Por toda a ajuda e orientação durante o mestrado. Pela paciência durante todo esse processo, principalmente na longa reta final. Muito obrigado por tudo e desculpe por algumas falhas.

Ao professor e amigo André Ostrensky. Por toda a ajuda desde o início das conversas sobre o mestrado, até o fim com a confecção da dissertação, além do apoio profissional a mim dispensado. Muito obrigado!

Aos professores Rodrigo de Almeida e Javier Burchard, pela ajuda com o processamento dos dados e análises estatísticas.

Aos alunos de graduação envolvidos nesse projeto, José Leonardo, Hayane Prado e Juliana Kreusch, e também ao colega de mestrado Jorge Barriuso. Saibam que sem a ajuda de vocês o trabalho seria infinitamente mais difícil. Espero ter ajudado cada um de alguma forma.

Às técnicas de laboratório Jéssica Fagundes e Marlise Mauerwerck, por todo o auxílio nas análises laboratoriais.

Aos funcionários do Setor de Bovinocultura Leiteira, Alceu e Diego, pelas conversas e pelo auxílio no manejo dos animais.

À Pontifícia Universidade Católica do Paraná e à Capes, pela disponibilidade da estrutura física e dos animais, além do auxílio financeiro.

À Sion Nanotec LTDA. pelo financiamento integral dos custos dessa pesquisa.

**A todos fica meu muito obrigado!**

## **FORMATO DA DISSERTAÇÃO**

A presente dissertação é composta por capítulos. O capítulo 1 apresenta uma introdução geral, a contextualização do tema, o estado da arte e os objetivos de estudo desta dissertação. O capítulo 2 trata-se de artigo científico completo, contendo referências bibliográficas e formatado nas normas da revista para o qual será submetido. O capítulo 3 finaliza esta dissertação com conclusões gerais e considerações finais deste trabalho e sugestões para estudos futuros.

## RESUMO GERAL

**Introdução:** A atividade leiteira é importante na cadeia de suprimento alimentar global, com uma produção total em 2015 de 491,204 milhões de toneladas. Em 2015 no Brasil, a produção de leite apresentou um valor bruto de US\$ 8,42 bilhões, representando cerca de 16% do valor da produção da pecuária nacional. Na produção leiteira intensiva a alimentação se destaca, pois a maior parte dos custos da atividade é originada nessa área. O uso de fontes de nitrogênio não proteico na alimentação de vacas leiteiras é interessante. Uma dessas fontes, a ureia, possui elevado equivalente proteico e boa relação custo: benefício, entretanto pode apresentar desvantagens como excessiva excreção de nitrogênio e queda de desempenho. A ureia protegida é uma alternativa potencial à ureia convencional, pois apresenta uma liberação de amônia ruminal mais lenta. **Objetivo:** O objetivo foi avaliar parâmetros produtivos e metabólicos de vacas leiteiras alimentadas com ureia protegida por nanopartículas proteicas. **Métodos:** O delineamento foi um *crossover* com três grupos de 15 vacas cada e três períodos de 21 dias. Em cada período os animais foram alimentados com uma das três dietas isonitrogenadas e isoenergéticas: FS = sem substituição do farelo de soja; UC = substituição parcial do farelo de soja por 0,52% de ureia convencional; UP = substituição parcial do farelo de soja por 0,59% de ureia protegida por nanopartículas. Foram mensuradas a produção e composição do leite, parâmetros de bioquímica sanguínea e urinária, além da relação alantoína: creatinina urinária como preditor da absorção de proteína microbiana. **Resultados:** Não foram encontradas diferenças significativas ( $p>0,05$ ) na produção e composição do leite, na bioquímica urinária e nem na relação alantoína: creatinina. Os valores médios de nitrogênio ureico no plasma (NUP) em  $\text{mg.dL}^{-1}$  após a alimentação matinal não diferiram significativamente ( $p>0,05$ ) no UC (20,65) e UP (20,25), porém ambos foram maiores ( $p<0,05$ ) quando comparados ao FS (19,52). **Conclusão:** A inclusão de até 0,59% de ureia protegida por nanopartículas não afeta o desempenho produtivo de vacas em lactação. Os valores de NUP semelhantes entre os tratamentos UC e UP demonstram que o comportamento de liberação e de absorção de amônia no rúmen é similar entre essas duas formas de ureia testadas.

**Palavras chave:** Nitrogênio Não Proteico, Produção de Leite, Composição do Leite, Excreção de Nitrogênio.

## ABSTRACT

**Introduction:** Dairy production is important in the global food supply chain, with a total production of 491.204 tons in the year 2015. In 2015 in Brazil, the dairy production showed a gross value of US \$ 8.42 billion, representing about 16% of the national livestock production. In intensive milk production, the animal feed has a prominent place, because represent an important cost in this activity. The use of non-protein nitrogen sources, like urea in nutrition of dairy cows is interesting since it have a high protein equivalent and a good cost: benefit ratio, but this use may have disadvantages such a high excretion of nitrogen and drop of animal performance. Protected urea is a potential alternative to conventional urea, because of a slower release of ruminal ammonia. **Objective:** To evaluate productive and metabolic responses of dairy cows fed a ration with urea protected by nanoparticles. **Methods:** The design was a crossover with three groups of 15 cows each and three periods of 21 days. In each period the animals were fed one of the isoproteic and isocaloric diets: FS = without substitution of soybean meal; UC = substitution of soybean meal by 0.52% conventional urea; UP = soybean meal substituted by 0.59% urea protected by nanoparticles. The yield and composition of milk, the blood and urine biochemical parameters, as well the allantoin: creatinine ratio as a predictor of microbial protein absorption, were measured. **Results:** No significant differences were found ( $p > 0.05$ ) in milk yield and composition, in urinary biochemistry and in allantoin: creatinine ratio. The average values of plasma urea nitrogen (PUN) in  $\text{mg.dL}^{-1}$  after the morning feeding did not differ significantly ( $p > 0.05$ ) in the UC (20.65) and UP (20.25), but both were higher ( $p < 0.05$ ) when compared to FS (19.52). **Conclusion:** Inclusions of up to 0.59% urea protected by nanoparticles do not affect the productive performance of dairy cows. The similar values of NUP between the treatments UC and UP demonstrate that the behavior of the release and the absorption of ammonia in the rumen is similar between these two types of urea which were evaluated.

**Key words:** Non-Protein Nitrogen, Milk Yield, Milk Composition, Nitrogen Excretion.

## **CAPÍTULO 1**

### **1. INTRODUÇÃO**

#### **1.1.Importância econômica da bovinocultura leiteira**

A atividade leiteira apresenta certa importância no setor de produção animal global. Essa atividade obteve uma produção de leite de cerca de 491,204 milhões de toneladas (USDA, 2015) no ano de 2015.

Os Estados Unidos se destacam como os maiores produtores de leite mundiais, com uma produção total de 94,4 milhões de toneladas proveniente de um rebanho de 9,3 milhões de vacas leiteiras, em 2015 (USDA, 2015). Esses valores demonstram uma alta produtividade média, com cerca de 10.150 kg.vaca.ano<sup>-1</sup>, caracterizada pelo uso intensivo e em larga escala de tecnologia.

A Nova Zelândia destaca-se devido à posição de maior exportador mundial do setor. Mesmo com uma queda de 6% na produção de leite fluído no ano de 2015, apresentou uma exportação total de 1,3 milhões de toneladas anuais de leite em pó integral, representando cerca de 65% do mercado global de leite em pó (USDA, 2015). Entretanto, a produção é sazonal já que as forragens são a base da alimentação adotada naquele país.

O Brasil também apresenta posição de destaque no cenário mundial. Com uma produção total de cerca de 35 bilhões de litros em 2014, o país se posiciona como o 4º maior produtor mundial, entretanto essa produção é alcançada ordenhando-se cerca de 23 milhões de animais, apresentando uma baixa produtividade, com produções médias de cerca de 1.488 kg.vaca.ano<sup>-1</sup> (Embrapa, 2017). No Brasil, o uso intensivo de tecnologias varia de acordo com a região, sendo que na grande maioria a adoção de tecnologia é mínima e muitas vezes a produção pode ser caracterizada como de subsistência.

Em 2015 o setor leiteiro do Brasil apresentou um valor de produção bruto de R\$ 27,2 bilhões (US\$ 8,42 bilhões), participando com cerca de 16% da produção pecuária bruta total do país (MAPA, 2015). Dentro desse universo produtivo, a região Sul é a região com a maior produção de leite, com uma produção anual de 12,2 bilhões de kg em 2014, representando 34,7% da

produção nacional. Um fator importante para essa grande produção é produtividade média das vacas nessa região, que gira em torno de 2.789 kg.vaca.ano<sup>-1</sup>, bem acima da média nacional (IBGE, 2015). Entretanto, esses valores poderiam ser mais elevados já que o levantamento realizado leva em consideração todas as vacas ordenhadas, sejam de raças com ou sem aptidão leiteira além da produção para consumo próprio. Na região Sul, destacam-se os três estados que compõe a região, Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina, com produções de 4,66, 4,59 e 3,05 bilhões de kg.ano<sup>-1</sup>, ocupando a 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> posições nacionais em produção de leite, respectivamente (Embrapa, 2017).

No Paraná, a região dos Campos Gerais destaca-se como importante polo nacional de produção de leite. Isso se deve à adoção de tecnologia em um nível mais elevado que o restante do país, evidenciado pela maior produtividade média das vacas, sendo o município de Castro um bom exemplo, já que seus melhores rebanhos apresentam uma produção média de 9.516 kg.vaca.ano<sup>-1</sup> (CEPEA, 2016a).

### **1.2.Importância da alimentação animal na atividade leiteira**

Um fator importante para o aumento da produtividade animal em rebanhos leiteiros é o uso intensivo de concentrados na dieta dos animais, que é característico de sistemas produtivos mais tecnificados, os quais buscam uma maior produtividade por animal e consequentemente uma maior eficiência alimentar, que na produção de leite significa mais kg de leite por kg de matéria seca (MS) ingerida e pode variar de 1,2 a 1,7 (Mattos, 2004).

A produção de rações para bovinos leiteiros no Brasil foi de 5,3 milhões de toneladas em 2015, apresentando uma queda de quase 2% em relação ao ano anterior (Sindirações, 2015), mesmo que boa parte dos concentrados seja adquirida diretamente pelas propriedades rurais. Esse dado demonstra que no geral há uma baixa utilização de concentrados para alimentação dos bovinos leiteiros no Brasil, além de uma diminuição da demanda por esses produtos no último ano.

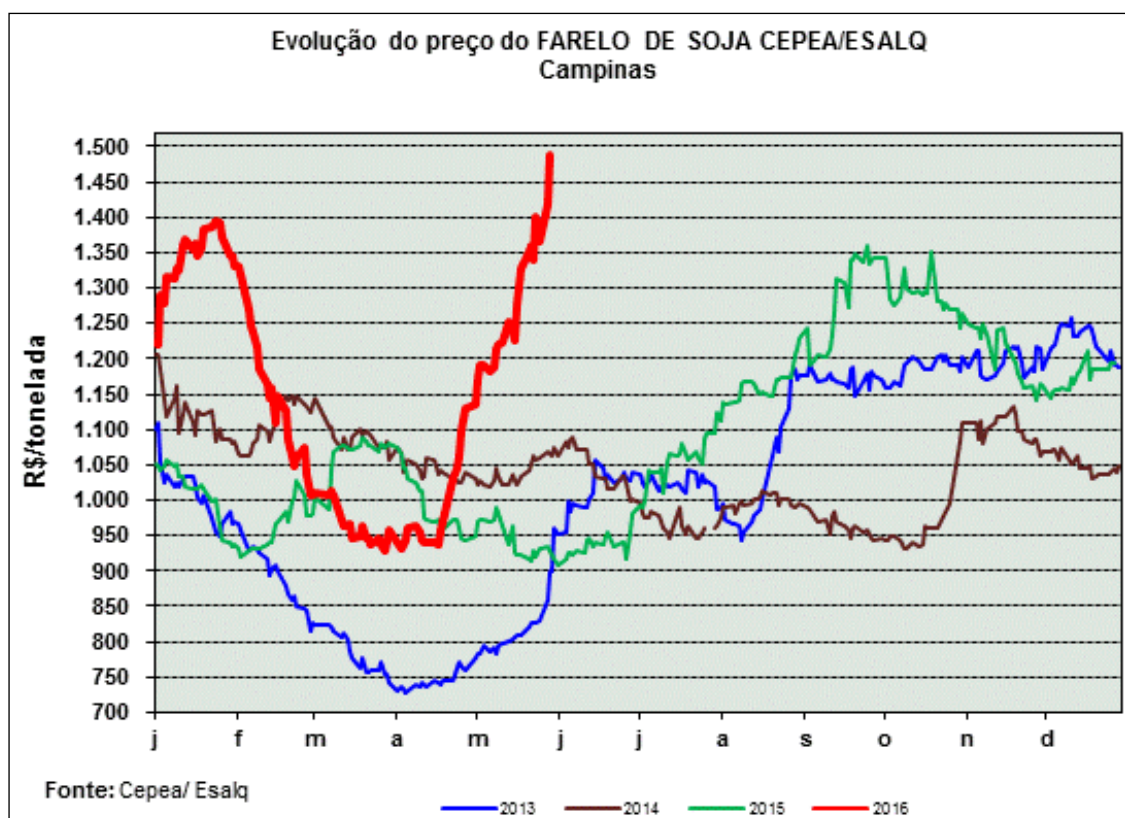
Em parte, essa baixa utilização se deve à baixa tecnificação dos produtores, que muitas vezes mantêm os animais em pastagens degradadas e

sem nenhum tipo de suplementação. Por outro lado, o preço crescente desses insumos no mercado brasileiro tem diminuído as margens para o produtor, levando à uma diminuição de sua aquisição e utilização por fazendas leiteiras. Dados do Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (CEPEA) demonstram que ao passar dos anos a relação de troca de leite por concentrados vem aumentando, ou seja, o produtor precisar produzir cada vez mais para adquirir a mesma quantidade de determinados insumos, como concentrados proteicos e sal mineral (CEPEA, 2015; 2016a).

Considerando a importância do fornecimento de concentrados para a produtividade animal nas fazendas leiteiras e também seu custo geralmente elevado, é necessário que seu uso seja bem planejado e os resultados de seu uso avaliados constantemente dentro das propriedades leiteiras. Em fazendas mais tecnificadas, com todos os animais em lactação confinados e recebendo toda a alimentação no cocho, estima-se que o custo dos concentrados pode representar cerca de 40% do custo total por litro de leite produzido, quando os custos das forragens são incluídos nesse cálculo, o custo total da alimentação pode participar com até 55% do custo total de produção.

Um dos principais alimentos concentrados utilizado na atividade leiteira no Brasil é o farelo de soja que é o principal ingrediente proteico utilizado na fabricação de rações no país, além de ser utilizado em larga escala também nas fazendas. Em sua composição apresenta um bom perfil de aminoácidos (AA) essenciais para a produção de leite, além de cerca de 35% de proteína não degradável no rúmen como porcentagem da proteína bruta (PB) (NRC, 2001), entretanto, historicamente é um dos concentrados que possui maior oscilação e aumento dos preços ao produtor (Figura 01), chegando a variar cerca de 95% no ano de 2012 (Agrolink, 2016), estimulando assim a busca por substitutos a fim de diminuir custos de produção.

**Figura 01.** Histórico recente das cotações do preço do farelo de soja no Brasil.



(CEPEA, 2016b)

### 1.3. Metabolismo do nitrogênio em ruminantes

O nitrogênio (N) é um importante elemento para a manutenção da vida. Ele possui papel fundamental na constituição de AA e consequentemente das proteínas, as quais exercem diversas atividades essenciais no organismo animal, dando forma e estrutura aos componentes celulares e também participando ativamente do metabolismo através da formação de enzimas e de moléculas dinâmicas como, por exemplo, a hemoglobina e os anticorpos (Marzzoco e Torres, 2007).

Todo o N obtido pelos animais é ingerido através da alimentação, pois não há síntese desse componente no organismo. A principal forma de ingestão de N é através das proteínas, as quais serão quebradas em peptídeos e AA para posterior absorção e assimilação pelo organismo animal. Para ruminantes a proteína dietética é dividida em proteína degradável no rúmen (PDR) e proteína não degradável no rúmen (PNDR), sendo que proteína verdadeira e nitrogênio não proteico (NNP) constituem a PDR (Bach et al., 2005).

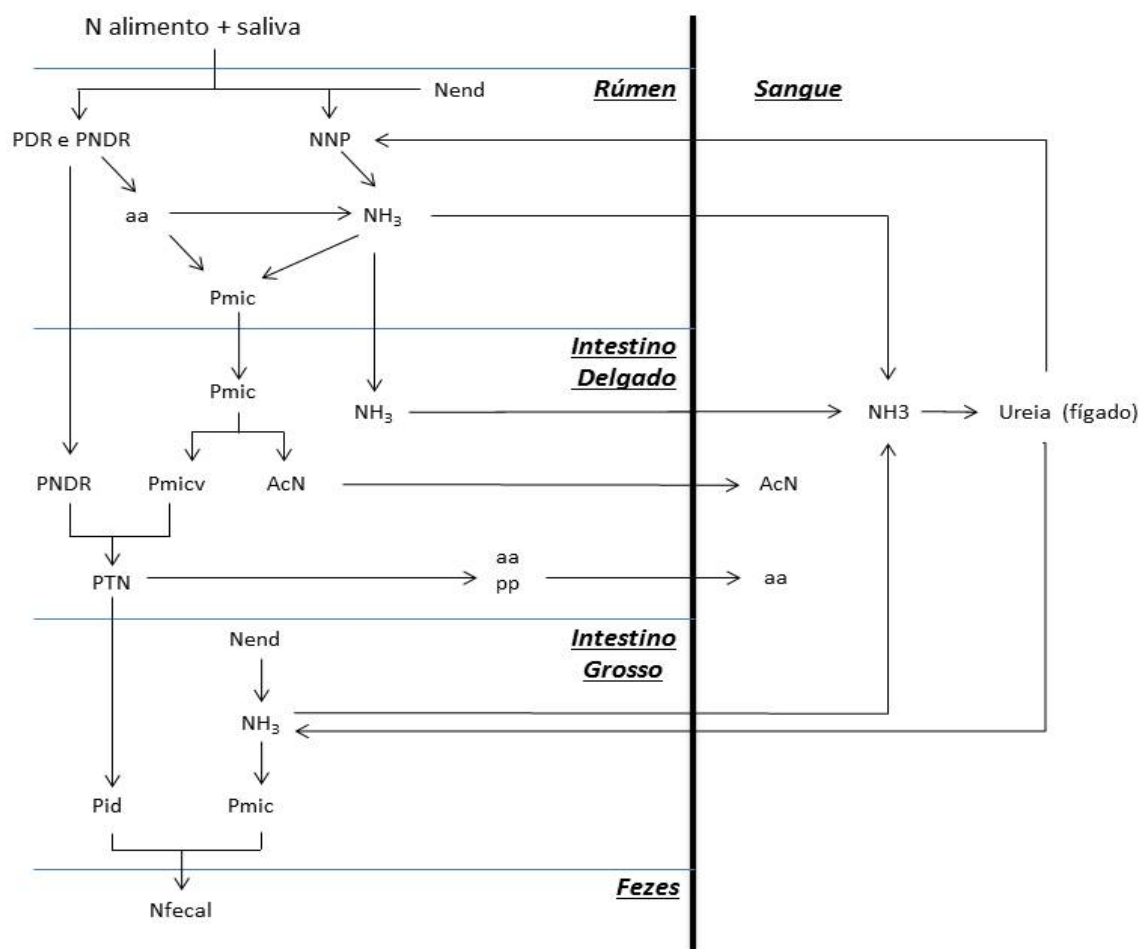
Os ruminantes possuem uma particularidade importante no metabolismo de N. Eles são capazes de utilizar fontes de NNP, ou seja, utilizam N que não está integrando uma proteína e pode estar na forma de ureia, sais de amônia, ácidos nucleicos, nitratos e nitritos (Kozloski, 2011). Essa capacidade se deve ao fato de que parte dos microrganismos ruminais utiliza amônia como substrato para síntese de seus próprios AA e proteínas.

Estudos da década de 60 demonstraram que ruminantes conseguem sobreviver e produzir recebendo NNP de ureia ou sais de amônia como fonte exclusiva de N (Virtanen, 1966); entretanto as bactérias ruminais podem utilizar AA e peptídeos, além da necessidade de outros substratos como os  $\alpha$ -cetoácidos e enxofre para síntese de proteína microbiana (Pmic) (Kozloski, 2011).

A amônia pode ter sua origem desde as fontes de NNP como também das fontes de proteína verdadeira, as quais podem ser degradadas a peptídeos e AA, eventualmente sendo degradados à amônia incorporados às bactérias (Bach et al., 2005). Um experimento utilizando fontes de N com isótopos marcados (Firkins et al., 2007), demonstrou que a contribuição da amônia para a síntese de proteínas microbianas pode variar de 23 a 95%, dependendo principalmente da dieta utilizada.

As fontes de N para o rúmen provêm de três origens distintas: alimentar – proteína verdadeira e NNP; N de reciclagem – ureia sanguínea absorvida pela parede ruminal e via salivar; e N endógeno – células de descamação e secreções. Essas três fontes contribuem para o afluxo de proteína do rúmen, seja na forma de Pmic, PNDR ou N amoniacal (Figura 02).

**Figura 02.** Metabolismo do nitrogênio no rúmen.



Adaptado de Kozloski (2011). Proteína degradável no rúmen (PDR); proteína não degradável no rúmen (PNDR); nitrogênio endógeno (Nend); nitrogênio não proteico (NNP); aminoácidos (aa); amônia (NH<sub>3</sub>); proteína microbiana (Pmic); proteína microbiana verdadeira (Pmicv); proteína verdadeira (PTN); ácidos nucleicos (AcN); peptídeos (pp); proteína indigestível (Pid); nitrogênio fecal (Nfecal).

Para que haja um adequado equilíbrio entre fontes de PDR e PNDR na dieta, alguns ingredientes são utilizados estrategicamente em diversas situações. Como fonte de PDR destacam-se os ingredientes que fornecem NNP, pois geralmente a unidade de N fornecida por eles possui um valor reduzido quando comparado a outras fontes proteicas extensamente utilizadas, como por exemplo, o farelo de soja. Sendo a ureia, a principal fonte de NNP adicionada à alimentação de ruminantes, devido às suas propriedades físico-químicas e seu aspecto econômico (Gabarra, 2001).

#### **1.4. Uso de ureia e ureia protegida para vacas leiteiras**

A ureia possui na sua composição valores próximos a 45% de N (Santos et al., 2001), o que confere a ela um equivalente proteico de aproximadamente 281%. Sua utilização vem sendo recomendada desde 1953, quando foram confeccionadas as primeiras normativas para sua inclusão na alimentação de vacas leiteiras (Reid, 1953). Em geral alguns valores de utilização de ureia na dieta são utilizados pela indústria leiteira, entre elas definições de inclusão máxima como até 27% do N total da dieta, 3% do concentrado ou ainda 1% do total de MS da dieta (Santos, 2009).

Entretanto, algumas desvantagens decorrentes da sua utilização são conhecidas e possuem grande importância na decisão do uso, uma delas é sua ultrarrápida hidrólise ruminal com a liberação de grandes quantidades de N amoniacal no rúmen (Golombeski et al., 2006; Highstreet et al., 2010). A transformação de ureia em amônia no ambiente ruminal ocorre através de uma hidrólise simples, devido à atividade de ureases bacterianas presentes tanto no líquido, quanto na parede ruminal. A urease presente na parede ruminal, parece ter grande importância na transformação da ureia proveniente do sangue, que flui para o rúmen através do epitélio ruminal (Santos, 2009).

A liberação de amônia pode ocorrer em um ritmo mais acelerado do que a capacidade de absorção e assimilação pelas bactérias ruminais, acarretando em acúmulo de amônia no ambiente ruminal e consequente perda para a corrente sanguínea através do epitélio ruminal (Lapierre e Lobley, 2001). A absorção de amônia na forma não ionizada ( $\text{NH}_3$ ) acontece de forma passiva por difusão simples pelas células epiteliais (Abdoun et al., 2007).

A disponibilidade de carboidratos no ambiente ruminal é um fator que impacta diretamente na utilização da amônia pelos microrganismos ruminais, pois são utilizados como fonte de energia para a formação das ligações peptídicas entre os AA, além de fornecerem os esqueletos de carbono necessários para a síntese dos mesmos (Bach et al., 2005). Quando a disponibilidade de carboidratos é insuficiente, os microrganismos ruminais tendem a usar AA como fonte energética, liberando mais amônia para o ambiente ruminal, além de não utilizarem a amônia já disponível (Reynolds e Kristensen, 2008).

Alguns trabalhos objetivaram encontrar níveis ótimos de amônia no ambiente ruminal. Um dos primeiros níveis citados foi por Sattler e Slyter (1974), que através de ensaios *in vitro* definiram que uma concentração ruminal de amônia acima de 5 mg.dL<sup>-1</sup> não seria benéfica, pois não há ganho em produção de Pmic. Entretanto, trabalhos mais recentes utilizando vacas em lactação demonstraram ganhos em produção e digestibilidade com concentrações entre 10 mg.dL<sup>-1</sup> (Ruiz et al., 2002) e 12,8 mg.dL<sup>-1</sup> (Boucher et al., 2007).

Níveis elevados de amônia ruminal não são desejados, pois toda a amônia que não for utilizada pelos microrganismos ruminais tenderá a ser absorvida pelo epitélio e transformada em ureia no fígado (Lapierre e Lobley, 2001).

Na corrente sanguínea, a amônia é carregada para o fígado, onde é transformada em ureia através do ciclo da ureia ou ciclo da ornitina. Na síntese da molécula de ureia através desse ciclo há um gasto energético líquido de um mol de adenosina trifosfato (ATP), devido ao gasto de 4 ligações fosfato ricas em energia, com geração de uma molécula de fumarato que é utilizada na produção de 2,5 a 3 moléculas de ATP no ciclo de Krebs (Nelson e Cox, 2004).

A ureia liberada na corrente sanguínea pode ser reciclada (Figura 02) ou então excretada através da urina e do leite. Com isso o N antes disponível na forma de amônia para as bactérias ruminais é desperdiçado, podendo levar à uma queda de desempenho e contribuindo na eutrofização do ambiente (Broderick et al., 2009; Inostroza et al., 2010). De forma geral, somente cerca de 20 a 30% do nitrogênio dietético é excretado no leite (Hof et al., 1997; Bequette et al., 1998; Brito e Broderick, 2007), o que está diretamente relacionado à utilização desse N pelos microrganismos do rúmen.

Um possível efeito adverso do uso de ureia está relacionado ao potencial tóxico da amônia sobre o sistema nervoso, onde seu acúmulo leva a depressão na síntese de ATP (Vissek, 1968), causando quadros de tetania, timpanismo, sialorréia, dispneia, desidratação, hipotermia e vasos episclerais ingurgitados (Antonelli et al., 2004). O fígado apresenta um limiar máximo de transformação de amônia em ureia e quando a concentração plasmática de amônia ultrapassa os 80 mg.dL<sup>-1</sup> essa capacidade pode ser perdida (Lewis, 1960).

Níveis excessivos de ureia plasmática também estão relacionados a quedas no desempenho reprodutivo. Rhoads et al. (2006) afirmam que a ureia plasmática afeta negativamente o ambiente dos folículos, dos ovidutos e do útero, não permitindo assim uma adequada implantação embrionária, com posterior retorno ao cio como consequência. Em um estudo no Canadá (Arunvipas et al., 2007), foi demonstrado que uma elevação do nitrogênio ureico no leite (NUL) de 10 a 20 mg.dL<sup>-1</sup>, pode causar uma redução de 13,9% na concepção ao primeiro serviço, isso ocorre pois os valores de NUL estão diretamente relacionados aos níveis de ureia plasmática (Hof et al., 1997).

Brito e Broderick (2007) e Highstreet et al. (2010), ao trabalharem com ureia convencional para vacas em lactação, demonstraram impactos negativos sobre o desempenho produtivo, com quedas em produção de leite e também nas produções de gordura, proteína e lactose, além de uma diminuição no teor de proteína no leite e queda de 10% na eficiência alimentar. Santos et al. (2011), também demonstraram aumentos do NUL em vacas alimentadas com ureia convencional.

Além dos problemas citados, níveis excessivos de ureia plasmática se apresentam como problema ambiental, já que grande parte dessa ureia é perdida através da urina (Broderick et al., 2009) e posteriormente convertida à amônia através de ureases do ambiente, contribuindo assim para a contaminação da água e do ar (Wanapat et al., 2009). A diminuição da excreção de N nas excretas animais é ambientalmente importante, já que o N urinário é o principal emissor de amônia na produção de leite (Lee et al., 2012).

Uma alternativa ao uso de ureia pecuária convencional é a ureia protegida da degradação ruminal, a qual tem por objetivo diminuir a velocidade de liberação de amônia no rúmen, consequentemente permitindo uma maior utilização da mesma pelos microrganismos lá presentes (Galo et al., 2003). Produtos como o biureto, fosfato de ureia, amiréia e ureia tratada com formaldeído já foram testados como fontes de liberação lenta da ureia no ambiente ruminal (Taylor-Edwards et al., 2009), entretanto essas fontes apresentaram menor utilização de N no rúmen e consequente maior excreção fecal (Calomeni, 2011).

Outras formas de proteção de ureia como o revestimento por polímeros ou ceras vegetais tem se mostrado mais eficazes em reduzir a velocidade de

liberação de N no rúmen (Taylor-Edwards et al., 2009), e diversos trabalhos *in vitro* e *in vivo*, vêm demonstrando taxas de liberação de amônia semelhantes ao farelo de soja e benefícios produtivos como melhoria na digestibilidade da matéria orgânica e melhora na eficiência alimentar (Santos, 2009). Porém, Souza et al., (2010), encontraram queda nos teores de gordura no leite e aumento no NUL utilizando uma ureia com proteção por ceras vegetais.

Entretanto, as fontes de ureia protegidas por polímeros e ceras vegetais não são passíveis de sofrer o processo de peletização quando adicionadas às rações para ruminantes, já que suas camadas de proteção podem sofrer degradação térmica durante o processo.

### **1.5. Justificativa**

O presente estudo justifica-se pela necessidade de melhoria da eficiência da utilização do N por vacas leiteiras em lactação, através da utilização de produtos alternativos na alimentação desses animais, já que essa categoria apresenta um baixo desempenho nesse quesito.

A disponibilização de produtos alternativos no mercado de alimentação animal também é importante, já que o produto testado apresenta uma nova forma de proteção, a qual se dá através de pulverização de diversas camadas de um material proteico nano-particulado que supostamente possui resistência térmica, permitindo assim a inclusão do referido produto às rações peletizadas sem degradação da ureia durante o processamento.

### **1.6. Hipótese**

A hipótese do presente estudo é de que o uso de ureia protegida por nanopartículas proteicas na dieta de vacas leiteiras, não afeta a produção e a composição do leite desses animais.

## **1.7. Objetivos**

Avaliar o desempenho produtivo de vacas leiteiras alimentadas com uma dieta em que o farelo de soja será substituído parcialmente por ureia de liberação lenta protegida por nanopartículas proteicas resistentes ao processamento térmico.

### **1.7.1. Objetivos específicos**

a) Avaliar a produção de leite de vacas leiteiras alimentadas com substituição parcial do farelo de soja por ureia protegida da degradação ruminal;

b) Avaliar a composição do leite (teores e produções de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e nitrogênio ureico) de vacas leiteiras alimentadas com substituição parcial do farelo de soja por ureia protegida da degradação ruminal;

c) Avaliar a contagem de células somáticas de vacas leiteiras alimentadas com substituição parcial do farelo de soja por ureia protegida da degradação ruminal;

d) Avaliar parâmetros sanguíneos (proteínas totais, albumina, ureia e nitrogênio ureico) e urinários (creatinina, ureia, nitrogênio ureico e alantoína) de vacas leiteiras alimentadas com substituição parcial do farelo de soja por ureia protegida da degradação ruminal.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdoun K, Stumpff F, Martens H. Ammonia and urea transport across the rumen epithelium: A review. *Animal Health Research*. 2007; 7: 1-17.

Agrolink, 2016. Disponível em: <<https://www.agrolink.com.br/cotacoes/historico/mt/farelo-de-soja-1ton>>.

Antonelli AC, Mori CS, Soares PC, Kitamura SS, Ortolani EL. Experimental ammonia poisoning in cattle fed extruded or prilled urea: clinical findings. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 2004; 41: 67-74.

Arunvipas P, VanLeeuwen JA, Dohoo IR, Leger ER, Keefe GP, Burton AS, Lissemore KD. Milk urea-nitrogen negatively affected first-service breeding success in commercial dairy cows in Prince Edward Island, Canada. *Preventive Veterinary Medicine*. 2007; 82: 42-50.

Bach A, Calsamiglia S, Stern MD. Nitrogen metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science*. 2005; 88: E9-E21.

Bequette BJ, Backwell FRC, Crompton LA. Current concepts of amino acid and protein metabolism in the mammary gland of the lactating ruminant. *Journal of Dairy Science*. 1998; 81: 2540-2559.

Boucher SE, Ordway RS, Whitehouse NL, Lundy FP, Kononoff PJ, Schwab CG. Effect of incremental urea supplementation of a conventional corn silage-based diet on ruminal ammonia concentration and synthesis of microbial protein. *Journal of Dairy Science*. 2007; 90: 5819-5633.

Brito AF, Broderick GA. Effects of different protein supplements on milk production and nutrient utilization in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2007; 90: 1816-1827.

Broderick GA, Stevenson MJ, Patton RA. Effect of dietary protein concentration and degradability on response to rumen-protected methionine in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2009; 92: 2719-2728.

Calomeni GD. Utilização de ureia encapsulada de liberação lenta na alimentação de vacas em lactação (Dissertação de Mestrado). Pirassununga, SP: Universidade de São Paulo; 2011.

Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (CEPEA). Agromensal – Informações de Mercado. 2016b. Piracicaba, Disponível em: <[http://cepea.esalq.usp.br/agromensal/2016/05\\_maio/Soja.htm](http://cepea.esalq.usp.br/agromensal/2016/05_maio/Soja.htm)>.

Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (CEPEA). Boletim do leite. 2015; No. 237. Piracicaba.

Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (CEPEA). Boletim do leite. 2016a; No. 249. Piracicaba.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). Indicadores, Leite e Derivados. 2017; No. 62. Juiz de Fora.

Firkins JL, Yu Z, Morrison M. Ruminant nitrogen metabolism: perspectives for integration of microbiology and nutrition for dairy. *Journal of Dairy Science*. 2007; 90: E1-E16.

Gabarra PR. Digestibilidade de nutrientes e parâmetros ruminais e sanguíneos de novilhos nelore alimentados com fontes protéicas e energéticas com diferentes degradabilidade ruminais (Dissertação de Mestrado). Piracicaba, SP: Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz; 2001.

Galo E, Emanuele SM, Sniffen CJ, White JH, Knapp JR. Effects of a polymer-coated urea product on nitrogen metabolism in lactating holstein dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 2003; 86: 2154-2162.

Golombeski GL, Kalscheur KF, Hippen AR, Schingoethe DJ. Slow-release urea and highly fermentable sugars in diets fed to lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2006; 89: 4395-4403.

Highstreet A, Robinson PH, Robison J, Garrett JG. Response of holstein cows to replacing urea with a slowly rumen released urea in a diet high in soluble crude protein. *Livestock. Science*. 2010; 129: 179-185.

Hof G, Vervoorn MD, Lenaers PJ, Tamminga S. Milk urea nitrogen as a tool to monitor the protein nutrition of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 1997; 80: 3333-3340.

Inostroza JF, Shaver RD, Cabrera VE, Tricárico JM. Effect of diets containing a controlled release urea product on milk yield, milk composition, and milk component yields in commercial Wisconsin dairy herds and economic implications. *Professional Animal Scientist*. 2010; 26: 175-180.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Produção da pecuária municipal. 2015; No. 42. Rio de Janeiro.

Kozloski GV. Bioquímica dos ruminantes. 3ª ed. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria; 2011.

Lapierre H, Lobley GE. Nitrogen recycling in the ruminant: A review. *Journal of Dairy Science*. 2001; 84: E223-E236.

Lee C, Hristov AN, Dell CJ, Feyereisen GW, Kaye J, Beegle D. Effect of dietary protein concentration on ammonia and greenhouse gas emitting potential of dairy manure. *Journal of Dairy Science*. 2012; 95: 1930-1941.

Lewis D. Ammonia toxicity in the ruminant. *Journal of the Agricultural*. 1960; 55: 111-117.

Marzzoco A, Torres BB. Aminoácidos e proteínas. In: Marzzoco A, Torres BB, editores. *Bioquímica básica*. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2007. p. 11-36.

Mattos WRS. Limites da eficiência alimentar em bovinos leiteiros. *Anais da 41ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*; 2004; Campo Grande, Mato Grosso. p. 1-12.

Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA). Valor da produção brasileira de 2015 é de R\$ 463,3 bilhões. 2015.

National Research Council (NRC). Nutrient requirements of dairy cattle. 7<sup>th</sup> ed. Washington: National Academy, 2001.

Nelson DL, Cox MM. *Lehninger principles of biochemistry*. 4<sup>th</sup> ed. New York: W.H. Freeman, 2004.

Reid JT. Urea as a protein replacement for ruminants: A review. *Journal of Dairy Science*. 1953; 36: 955-996.

Reynolds CK, Kristensen NB. Nitrogen recycling through the gut and the nitrogen economy of ruminants: An asynchronous symbiosis. *Journal of Animal Science*. 2008; 86: E293-E305.

Rhoads ML, Rhoads RP, Gilbert RO, Toole R, Butler WR. Detrimental effects of high plasma urea nitrogen levels on viability of embryos from lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science*. 2006; 91: 1-10.

Ruiz R, Tedeschi LO, Marini JC, Fox DG, Pell AN, Jarvis G, Russell JB. The effect of ruminal nitrogen (N) deficiency in dairy cows: Evaluation of the cornell net carbohydrate and protein system ruminal N deficiency adjustment. *Journal of Dairy Science*. 2002; 85: 2986-2999.

Santos GT, Cavalieri FLB, Modesto EC. Recentes avanços em nitrogênio não protéico na nutrição de vacas leiteiras. *Anais do 2º Simpósio Internacional em Bovinocultura de Leite: Novos conceitos em nutrição*; 2001; Lavras, Minas Gerais. p. 199-228.

Santos JF, Dias Júnior GS, Bitencourt LL, Lopes NM, Siécola Júnior S, Silva JRM, Pereira RAN, Pereira MN. Resposta de vacas leiteiras à substituição parcial de farelo de soja por ureia encapsulada. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2011; 63: 423-432.

Santos JF. Resposta de vacas leiteiras à substituição parcial de farelo de soja por ureia encapsulada (Dissertação de Mestrado). Lavras, MG: Universidade Federal de Lavras; 2009.

Satter L, Slyter L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *British Journal of Nutrition*. 1974; 32: 199-206.

Sindirações. *Boletim Informativo do Setor Alimentação Animal*. 2015.

Souza VL, Almeida R, Silva DFF, Piekarski PRB, Jesus CP, Pereira MN. Substituição parcial de farelo de soja por ureia protegida na produção e composição do leite. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2010; 62: 1415-1422.

Taylor-Edwards CC, Elam NA, Kitts SE, McLeod KR, Axe DE, Vanzant ES, Kristensen NB, Harmon DL. Influence of slow-release urea on nitrogen balance and portal-drained visceral nutrient flux in beef steers. *Journal of Dairy Science*. 2009. 87: 209-221.

United States Department of Agriculture (USDA). *Dairy: World markets and trade*. 2015.

Virtanen AI. Milk production of cows on protein-free feed. *Science*. 1966; 153: 1603-1614.

Visek WJ. Some aspects of ammonia toxicity in animals cells. *Journal of Dairy Science*. 1968; 51: 286-295.

Wanapat M, Polyorach S, Boonnop K, Mapato C, Cherdthong A. Effects of treating rice straw with urea or urea and calcium hydroxide upon intake, digestibility, rumen fermentation and milk yield of dairy cows. *Livestock Science*. 2009; 125: 238-243.

## CAPÍTULO 2

### **Avaliação produtiva de vacas leiteiras alimentadas com ureia protegida por nanopartículas proteicas em substituição parcial ao farelo de soja**

*Productive evaluation of dairy cows fed with urea protected by protein nanoparticle in partial replacement of soybean meal*

RIBEIRO D.R.<sup>1</sup>, RATIM J.L.S.<sup>2</sup>, RIBEIRO K.M.<sup>3</sup>, ANATER A.<sup>4</sup>, ALMEIDA R.<sup>5</sup>,  
OSTRENSKY A.<sup>5</sup>, PIMPÃO C.T.<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Mestrando em Ciência Animal – Escola de Ciências da Vida/PUCPR, Médico Veterinário, deividrr@hotmail.com;

<sup>2</sup>Graduando em Medicina Veterinária – Escola de Ciências da Vida/PUCPR, leonardoratim@hotmail.com

<sup>3</sup>Estudante de Curso Técnico – Centro Estadual de Educação Profissional, kauanemariaribeiro@hotmail.com;

<sup>4</sup>Mestranda em Ciência Animal – Escola de Ciências da Vida/PUCPR, Médica Veterinária, amanda\_anater@hotmail.com;

<sup>5</sup>Professor Titular – Setor de Ciências Agrárias/ UFPR, Médico Veterinário, ralmeida@ufpr.br;

<sup>6</sup>Professor Adjunto – Escola de Ciências da Vida/PUCPR, Médico Veterinário, andre.ostrensky@pucpr.br;

<sup>7</sup>Professora Titular – Escola de Ciências da Vida/PUCPR, Médica Veterinária, claudia.pimpao@pucpr.br.

### **RESUMO**

O uso de fontes nitrogênio não proteico na alimentação de vacas leiteiras pode ser interessante em certas situações. Uma dessas fontes, a ureia, possui elevado equivalente proteico e boa relação custo: benefício, entretanto pode apresentar desvantagens como excessiva excreção de nitrogênio e queda de desempenho. A ureia protegida é uma alternativa potencial à ureia convencional, pois apresenta uma liberação de amônia ruminal mais lenta. O objetivo foi avaliar parâmetros produtivos e metabólicos de vacas leiteiras alimentadas com ureia protegida por nanopartículas. O delineamento foi um *crossover* com três grupos de 15 vacas cada e três períodos de 21 dias. Em cada período os animais foram alimentados com uma das três dietas isonitrogenadas e isoenergéticas: FS = sem substituição do farelo de soja; UC = substituição parcial do farelo de soja por 0,52% de ureia convencional; UP = substituição parcial do farelo de soja por 0,59% de ureia protegida por

nanopartículas. Foram mensuradas a produção e composição do leite, parâmetros de bioquímica sanguínea e urinária, além da relação alantoína: creatinina urinária como preditor da absorção de proteína microbiana. Não foram encontradas diferenças significativas ( $p>0,05$ ) na produção e composição do leite, na bioquímica urinária e nem na relação alantoína: creatinina. Os valores médios de nitrogênio ureico no plasma (NUP) em  $\text{mg.dL}^{-1}$  após a alimentação matinal não diferiram significativamente ( $p>0,05$ ) no UC (20,65) e UP (20,25), porém ambos foram maiores ( $p<0,05$ ) quando comparados ao FS (19,52). A inclusão de 0,59% de ureia protegida por nanopartículas não afeta o desempenho produtivo de vacas em lactação. Os valores de NUP semelhantes entre os tratamentos UC e UP sugerem que o comportamento de liberação e de absorção de amônia no rúmen é similar entre essas duas formas de ureia testadas.

**Palavras chave:** Nitrogênio Não Proteico, Produção de Leite, Composição do Leite, Alantoína, Excreção de Nitrogênio.

## **ABSTRACT**

The use of non-protein nitrogen sources, like urea in nutrition of dairy cows is interesting since it have a high protein equivalent and a good cost: benefit ratio, but this use may have disadvantages such a high excretion of nitrogen and drop of animal performance. Protected urea is a potential alternative to conventional urea, because of a slower release of ruminal ammonia. The objective was to evaluate productive and metabolic responses of dairy cows fed a ration with urea protected by protein nanoparticles. The design was a crossover with three groups of 15 cows each and three periods of 21 days. In each period the animals were fed one of the isonitrogenated and isocaloric diets: FS = without substitution of soybean meal; UC = substitution of soybean meal by 0.52% conventional urea; UP = soybean meal substituted by 0.59% urea protected by nanoparticles. The yield and composition of milk, the blood and urine biochemical parameters, as well the allantoin: creatinine ratio as a predictor of microbial protein absorption, were measured. No significant differences were found ( $p>0.05$ ) in milk yield and composition, in urinary biochemistry and in allantoin: creatinine ratio. The average values of plasma

urea nitrogen (PUN) in  $\text{mg.dL}^{-1}$  after the morning feeding did not differ significantly ( $p > 0.05$ ) in the UC (20.65) and UP (20.25), but both were higher ( $p < 0.05$ ) when compared to FS (19.52). Inclusions of 0.59% urea protected by nanoparticles do not affect the productive performance of dairy cows. The similar values of NUP between the treatments UC and UP suggest that the behavior of the release and the absorption of ammonia in the rumen is similar between these two types of urea which were evaluated.

**Key words:** Non-Protein Nitrogen, Milk Yield, Milk Composition, Allantoin, Nitrogen Excretion.

## INTRODUÇÃO

Um fator importante para o aumento da produtividade animal em rebanhos leiteiros é o uso intensivo de concentrados na dieta dos animais, que é característico de sistemas produtivos mais tecnificados. Com o desenvolvimento do mercado, há busca por maior produtividade animal e consequentemente por maior eficiência alimentar, que na produção de leite significa mais kg de leite produzidos por kg de matéria seca (MS) ingerida, esse valor pode variar de 1,2 a 1,7 kg leite.kg MS<sup>-1</sup> (Mattos, 2004).

Os ruminantes possuem uma particularidade importante no metabolismo de nitrogênio (N), pois são capazes de utilizar fontes de nitrogênio não proteico (NNP), ou seja, utilizam N que não está integrando uma proteína e pode estar sobre a forma de ureia, sais de amônia, ácidos nucleicos, nitratos e nitritos (Kozloski, 2011). Essa capacidade se deve ao fato de que parte dos microrganismos ruminais utiliza amônia como substrato para síntese de seus próprios aminoácidos.

A ureia é a principal fonte de NNP adicionada à alimentação de ruminantes (Gabarra, 2001) e possui em sua composição valores próximos a 45% de N (Santos et al., 2001), conferindo a ela um equivalente proteico de aproximadamente 281%. Sua utilização vem sendo recomendada desde a década de 1950, quando foram confeccionadas as primeiras normativas para sua inclusão na alimentação de vacas leiteiras (Reid, 1953). Em geral os valores de inclusão recomendados não devem ultrapassar 1% da MS da dieta (Santos et al., 2011).

Entretanto, sua característica de rápida hidrólise ruminal com a liberação de grandes quantidades de N amoniacal no rúmen (Golombeski et al., 2006; Highstreet et al., 2010) pode ser uma desvantagem, tendo grande importância na decisão do uso desse produto. Geralmente a liberação de amônia ocorre em um ritmo mais acelerado do que a capacidade de absorção pelas bactérias ruminais, acarretando em perda para a corrente sanguínea através do epitélio ruminal (Lapierre e Lobley, 2001).

Na corrente sanguínea, a amônia é carregada para o fígado e é transformada em ureia através do ciclo da ureia ou ciclo da ornitina. Para que ocorra essa síntese há gasto energético já que há queima de ligações fosfato de alta energia (Nelson e Cox, 2004).

Um possível efeito adverso do uso inadequado de ureia está relacionado ao potencial tóxico da amônia sobre o sistema nervoso (Vissek, 1968), causando quadros de tetania, timpanismo, sialorréia e dispneia. Além disso, níveis excessivos de ureia plasmática também estão relacionados a quedas no desempenho reprodutivo (Rajala-Schultz et al., 2001; Rhoads et al., 2006).

Brito e Broderick (2007) e Highstreet et al. (2010), ao trabalharem com ureia convencional para vacas em lactação, demonstraram impactos negativos sobre o desempenho produtivo, com quedas em produção de leite e também nas produções de gordura, proteína e lactose, além de uma diminuição no teor de proteína no leite e queda de 10% na eficiência alimentar. Santos et al. (2011) também demonstraram aumentos do nitrogênio ureico no leite (NUL) em vacas alimentadas com ureia convencional, pois o NUL tem relação direta com os níveis de ureia plasmática (Hof et al., 1997) e consequentemente com a performance reprodutiva quando em níveis elevados.

Desta forma, a ureia protegida da degradação ruminal pode ser uma alternativa à ureia convencional, pois através de uma liberação mais lenta da ureia e consequentemente de amônia, permite uma melhor utilização do N pelas bactérias ruminais (Galo et al., 2003).

A hipótese do presente estudo é que o uso de ureia protegida por nanopartículas proteicas na dieta de vacas leiteiras, não afeta a produção e a composição do leite desses animais.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho produtivo e parâmetros sanguíneos relacionados ao metabolismo de nitrogênio, em vacas leiteiras alimentadas com uma dieta em que o farelo de soja foi substituído parcialmente por ureia protegida por nanopartículas proteicas resistentes ao processamento térmico.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Esse experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA) da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), sob nº de protocolo 888 – 1ª versão, em 22/05/2014.

O experimento teve duração total de 63 dias e foi realizado de outubro a dezembro de 2014 no Setor de Bovinocultura Leiteira da Fazenda Experimental Gralha Azul, pertencente à PUCPR, situada no município de Fazenda Rio

Grande, Região Metropolitana de Curitiba, PR. Foram utilizadas 45 vacas leiteiras da raça Holandesa com  $170 \pm 87$  dias em lactação,  $1,9 \pm 0,9$  lactações e produção média de leite de  $34,9 \pm 5,9$  kg.dia<sup>-1</sup> ao início do experimento. As vacas foram ordenhadas duas vezes ao dia (0600 e 1800 h) e alojadas em confinamento total em estábulo tipo *free-stall*.

Os animais foram blocados em três grupos distintos em função da ordem de lactação (OL), dias em lactação (DEL) e produção de leite (PL); foram selecionados somente animais com DEL superior à 45 dias e que ao término do experimento contassem com no mínimo 30 dias até a secagem.

O delineamento foi do tipo *crossover* e os animais de cada bloco receberam simultaneamente um dos 3 tratamentos durante 21 dias consecutivos, alternando-se os tratamentos entres os grupos ao término de cada período de 21 dias. Os tratamentos foram: farelo de soja (FS), dieta sem substituição de farelo de soja; ureia convencional (UC), dieta com substituição parcial do farelo de soja por ureia pecuária; e ureia protegida (UP), com substituição parcial do farelo de soja por ureia protegida por nanopartículas proteicas. O material e a tecnologia empregados para a proteção dessa ureia, não podem ser descritas devido ao contrato de confidencialidade firmado entre as partes.

Uma dieta-base foi fornecida na forma de dieta total misturada (DTM) (Tabela 01), duas vezes ao dia imediatamente após as ordenhas das 0600 h e 1800 h, sendo o tratamento fornecido na forma de *top-dressing* sobre a dieta da manhã, pois o fornecimento de ureia no período da tarde pode diminuir a absorção de amônia pelo epitélio ruminal devido ao menor pH ruminal nesse período (Santos et al., 2011) mascarando assim possíveis efeitos negativos de ambas as ureias.

Como complementação à DTM, farelo de soja e milho moído foram adicionados sobre a DTM já no cocho, de forma a manter os tratamentos isoenergéticos, isonitrogenados e com a mesma MS, de acordo com os níveis recomendados pelo *NRC Dairy Cattle* (2001) (Tabela 02). A DTM foi fornecida em quantidade suficiente para que houvesse no mínimo 5% de sobras ao final do dia.

**Tabela 01.** Composição da dieta base e da complementação dos tratamentos.

| Ingredientes (%MS)             | Dieta Base              |      |      |
|--------------------------------|-------------------------|------|------|
| Silagem de milho               | 43,07                   |      |      |
| Feno de tifton                 | 1,46                    |      |      |
| Farelo de soja                 | 13,01                   |      |      |
| Milho moído                    | 15,93                   |      |      |
| Farelo de trigo                | 8,33                    |      |      |
| Resíduo úmido de cervejaria    | 6,47                    |      |      |
| Casca de soja                  | 3,73                    |      |      |
| Calcário calcítico             | 1,15                    |      |      |
| Bicarbonato de sódio           | 1,05                    |      |      |
| Sal mineral                    | 1,04                    |      |      |
| Sais cálcicos de ácidos graxos | 0,60                    |      |      |
| Óxido de magnésio              | 0,22                    |      |      |
| Cloreto de sódio               | 0,22                    |      |      |
| Fosfato bicálcico              | 0,09                    |      |      |
| Premix microminerais           | 0,09                    |      |      |
| Adsorvente de micotoxinas      | 0,09                    |      |      |
|                                | Complementação no Cocho |      |      |
|                                | FS                      | UC   | UP   |
| Farelo de soja                 | 3,45                    | -    | -    |
| Milho moído                    | -                       | 3,24 | 3,24 |
| Ureia pecuária convencional    | -                       | 0,52 | -    |
| Ureia protegida                | -                       | -    | 0,59 |

MS = porcentagem de matéria seca; FS = Tratamento sem substituição de farelo de soja; UC = tratamento com substituição parcial do farelo de soja por ureia pecuária convencional; UP = tratamento com substituição parcial do farelo de soja por ureia protegida.

Previamente ao fornecimento dos tratamentos, foi realizado um período de covariável com mensuração da PL durante três dias consecutivos. Nos dias 17, 18 e 19 de cada período, a PL foi mensurada e amostras de leite compostas (manhã e tarde) foram tomadas e acondicionadas em frascos com bronopol. Posteriormente, as amostras foram enviadas à Associação Paranaense dos Criadores de Bovinos da Raça Holandesa para análise dos teores de gordura, proteína, lactose, caseína, nitrogênio ureico do leite (NUL) e sólidos totais, através de aparelho com infra-vermelho e a contagem de células somáticas (CCS) através de citometria de fluxo. Foram calculadas as

produções em  $\text{kg.d}^{-1}$  de cada componente do leite, além de produções de leite em  $\text{kg.d}^{-1}$  corrigidas por energia, para 3,5% de gordura e a energia excretada no leite em  $\text{Mcal.d}^{-1}$  (Boermann et al., 2015), bem como a excreção em  $\text{g.dia}^{-1}$  de NUL.

**Tabela 02.** Níveis nutricionais estimados das dietas experimentais com a adição das respectivas suplementações, formuladas de acordo com o *NRC Dairy Cattle* (2001)<sup>1</sup>.

| Níveis nutricionais (%MS)                              | Dietas Experimentais |        |        |
|--------------------------------------------------------|----------------------|--------|--------|
|                                                        | FS                   | UC     | UP     |
| Matéria Seca (%MO)                                     | 48,18                | 48,19  | 48,30  |
| Proteína Bruta                                         | 15,90                | 15,90  | 15,90  |
| Proteína degradável no rúmen                           | 10,50                | 11,00  | 10,40  |
| Proteína não degradável no rúmen                       | 5,40                 | 4,90   | 5,50   |
| Balanço de PDR ( $\text{g.d}^{-1}$ )                   | 148,00               | 258,00 | 124,00 |
| Balanço de PNDR ( $\text{g.d}^{-1}$ )                  | 142,00               | 39,00  | 188,00 |
| Fibra em detergente neutro                             | 34,20                | 33,80  | 33,80  |
| Fibra em detergente neutro de forragens                | 21,50                | 21,40  | 21,40  |
| Fibra em detergente ácido                              | 19,20                | 18,90  | 18,90  |
| Extrato etéreo                                         | 4,00                 | 4,10   | 4,10   |
| Carboidratos não fibrosos                              | 40,10                | 40,60  | 40,70  |
| Nutrientes digestíveis totais para bovinos             | 71,00                | 71,00  | 71,00  |
| Cálcio                                                 | 0,90                 | 0,90   | 0,90   |
| Fósforo                                                | 0,50                 | 0,50   | 0,50   |
| <b>Consumos médios (<math>\text{kg.d}^{-1}</math>)</b> |                      |        |        |
| Consumo estimado de MO                                 | 49,39                | 49,52  | 49,39  |
| Consumo estimado de MS                                 | 23,80                | 23,91  | 23,80  |
| Consumo estimado de PB                                 | 3,78                 | 3,80   | 3,78   |
| Consumo estimado de $\text{N}^2$                       | 0,60                 | 0,60   | 0,60   |

FS = Tratamento sem substituição de farelo de soja; UC = tratamento com substituição parcial do farelo de soja por ureia pecuária convencional; UP = tratamento com substituição parcial do farelo de soja por ureia protegida; MS = matéria seca; MO = matéria original; PB = proteína bruta; N = nitrogênio; PDR = proteína degradável no rúmen; PNDR = proteína não degradável no rúmen.

<sup>1</sup> Níveis nutricionais gerados através das exigências do NRC Dairy Cattle 2001, utilizando os seguintes parâmetros: vacas em lactação,  $35,5 \text{ kg.d}^{-1}$  de produção diária de leite, raça Holandesa, 42 meses de idade, 660 kg de peso vivo, 3,4% de gordura no leite, 2,88% de proteína verdadeira no leite, 140 dias em lactação e 60 dias de prenhez.

<sup>2</sup> Consumo de  $\text{PB.d}^{-1} \times 0,46$ .

No 21º dia de cada período, foram coletadas amostras de sangue individuais das 15 vacas por grupo. O sangue foi coletado em tubos a vácuo

(Vacuette®) com ativador de coágulo (1 amostra) ou anticoagulante (7 amostras) e posteriormente centrifugado por 15 min a 3.500 RPM, o sobrenadante foi retirado e acondicionado em microtubos, que foram congelados à -20° C para posterior análises. A amostra para soro foi coletada no momento do fornecimento do tratamento (T0) e as amostras para plasma foram coletadas em 7 momentos distintos ao longo do dia, com 0, 1, 2, 4, 6, 8 e 10 horas após o fornecimento dos tratamentos (T0, T1, T2, T3, T4, T5 e T6, respectivamente).

A amostra de soro foi utilizada para dosagem de albumina e proteínas séricas totais. A amostra de plasma foi utilizada para dosagem de ureia, com posterior cálculo do nitrogênio ureico plasmático (NUP) através da multiplicação da concentração de ureia plasmática por 0,46, já que o teor de nitrogênio presente na molécula de ureia é de 46% (Lira, 2011).

Também no 21º dia de cada período, amostras *spot* de urina foram coletadas das mesmas 15 vacas por grupo através de estimulação vulvar após no mínimo 4 horas da alimentação da manhã. Em seguida, foram acidificadas até  $\text{pH} \leq 3$  para evitar destruição dos derivados de purinas e posteriormente diluídas na proporção 1:4 em água destilada e congeladas a 20° C negativos para posterior análise de alantoína, através de método colorimétrico, adaptado de Chen e Gomes (1992). Uma alíquota da amostra sem acidificação foi congelada em microtubos a -20°C para dosagens de creatinina e ureia.

A relação alantoína: creatinina foi utilizada como o preditor da absorção intestinal de N oriundo de proteína microbiana (Neal et al., 2014). Os resultados de ureia urinária foram multiplicados por 0,46 para que o valor de N ureico urinário fosse encontrado.

A produção diária de urina foi estimada com base na concentração de creatinina urinária das amostras *spot* em  $\text{mg.L}^{-1}$ , dividida pela excreção diária total de creatinina, a qual foi obtida através da multiplicação do peso vivo por 29,0, valor encontrado como uma constante de excreção por Valadares et al. (1999). Os valores de produção de urina em  $\text{L.d}^{-1}$  foram utilizados para calcular as excreções totais de N e alantoína urinárias em  $\text{g.d}^{-1}$  e  $\text{mmol.d}^{-1}$ , respectivamente.

Para as análises sanguíneas, de creatinina e ureia urinária, foram utilizados kits comerciais (Labtest Diagnóstica S/A®). As análises foram lidas em aparelho de bioquímica semi-automático (QuickLab – DRAKE®).

A pesagem e a avaliação de escore de condição corporal (ECC) foram realizadas no 21º dia de cada período, sendo que para a avaliação do ECC foi utilizada a escala de 1 a 5 (Wildman et al., 1982) com frações de 0,25. Foi utilizada a média da avaliação de dois avaliadores treinados e independentes.

Amostras dos alimentos (silagem de milho, feno, ração comercial, resíduo de cervejaria, farelo de soja, milho moído e casca de soja) foram coletadas no início do experimento para análise bromatológica e utilização na matriz nutricional para a formulação da dieta.

A DTM base foi amostrada semanalmente e a cada período de 21 dias uma amostra composta das três semanas foi formada para posterior análises de matéria seca, proteína bruta, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, extrato etéreo, resíduo mineral, cálcio, fósforo e o cálculo de CNF (AOAC, 1995). A MS da silagem de milho foi analisada semanalmente com uso de analisador tipo KOSTER® e quando necessário, foi realizado o ajuste da MS da DTM.

A análise estatística dos dados de produção e composição de leite foi realizada utilizando o PROC MIXED (Littell et al., 2006) do pacote estatístico do SAS® *Studio 3.5* (SAS, Cary Institute, 2016), com o seguinte modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + C_i + B_j + T_k + P_l + E_{ijkl}$$

$Y_{ijkl}$  é a variável dependente,  $\mu$  = média geral,  $C_i$  = efeito do período de covariável,  $B_j$  = efeito do bloco ( $j = 1$  a 15),  $T_k$  = efeito do tratamento ( $j = 1$  a 3),  $P_l$  = efeito do período ( $l = 1$  a 3) e  $e_{ijkl}$  = erro residual.

Os dados referentes à bioquímica sanguínea e urinária foram analisados usando o PROC GLM com o mesmo *software* estatístico, o modelo utilizado foi:

$$Y_{ijk} = \mu + V_i + T_j + P_k + T_j * P_k + E_{ijk}$$

$Y_{ijk}$  é a variável dependente,  $\mu$  = média geral,  $V_i$  = efeito de vaca ( $i = 1$  a 45),  $T_j$  = efeito do tratamento ( $j = 1$  a 3),  $P_k$  = efeito do período ( $l = 1$  a 3),  $T_j * P_k$  = efeito da interação tratamento e período, e  $e_{ijk}$  = erro residual.

As comparações entre as médias de todas as variáveis foram realizadas através do teste de Tukey e caracterizados os contrastes (FSxUC, FSxUP e UCxUP).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### *Composição das dietas*

Os resultados de composição da dieta base em cada um dos períodos está descrito na Tabela 03. Pode-se observar que há um incremento no teor de PB em relação aos valores formulados (Tabela 02), entretanto essas variações foram constantes durante os períodos, provendo níveis proteicos similares para ambos os grupos durante o decorrer do período experimental.

**Tabela 03.** Composição nutricional da dieta base de cada um dos períodos experimentais:

| Níveis nutricionais (%MS)                  | Dietas base |            |            |
|--------------------------------------------|-------------|------------|------------|
|                                            | 1º Período  | 2º Período | 3º Período |
| Matéria seca (%MO)                         | 44,80       | 44,50      | 45,15      |
| Proteína bruta                             | 16,61       | 16,80      | 16,60      |
| Fibra em detergente neutro                 | 36,01       | 31,65      | 30,77      |
| Fibra em detergente ácido                  | 16,00       | 13,19      | 12,34      |
| Extrato etéreo                             | 4,03        | 4,07       | 3,99       |
| Resíduo mineral                            | 5,43        | 5,49       | 5,48       |
| Carboidratos não fibrosos                  | 37,92       | 41,99      | 43,16      |
| Nutrientes digestíveis totais para bovinos | 66,30       | 66,76      | 66,56      |
| Cálcio                                     | 1,57        | 1,44       | 1,36       |
| Fósforo                                    | 0,39        | 0,38       | 0,39       |

MO = Matéria original.

### *Produção e composição do leite*

Os resultados de produção de leite em kg.d<sup>-1</sup> (PL), produção de leite corrigida para 3,5% gordura (PLCG) e produção de leite corrigida por energia (PLCE), não apresentaram diferenças significativas ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos (Tabela 04).

**Tabela 04.** Resultados de produção e composição do leite dos diferentes grupos experimentais, em valores médios por tratamento.

| Parâmetros                      | Dietas Experimentais |       |       | EPM  | Valores de p |       |       |
|---------------------------------|----------------------|-------|-------|------|--------------|-------|-------|
|                                 | FS                   | UC    | UP    |      | FSxUC        | FSxUP | UCxUP |
| kg.d <sup>-1</sup>              |                      |       |       |      |              |       |       |
| Produção de leite               | 34,03                | 33,86 | 33,49 | 0,36 | 0,95         | 0,57  | 0,78  |
| PLCG 3,5%                       | 32,31                | 31,50 | 31,83 | 0,36 | 0,42         | 0,69  | 0,79  |
| PLCE                            | 32,76                | 32,05 | 32,24 | 0,34 | 0,48         | 0,63  | 0,93  |
| Gordura                         | 1,08                 | 1,03  | 1,06  | 0,01 | 0,25         | 0,76  | 0,36  |
| Proteína                        | 1,05                 | 1,04  | 1,03  | 0,01 | 0,88         | 0,46  | 0,64  |
| Caseína                         | 0,82                 | 0,81  | 0,80  | 0,00 | 0,90         | 0,48  | 0,64  |
| Lactose                         | 1,56                 | 1,55  | 1,53  | 0,01 | 0,98         | 0,58  | 0,72  |
| Sólidos totais                  | 4,02                 | 3,96  | 3,95  | 0,04 | 0,63         | 0,56  | 1,00  |
| Teores em %                     |                      |       |       |      |              |       |       |
| Gordura                         | 3,23                 | 3,10  | 3,19  | 0,03 | 0,26         | 0,87  | 0,39  |
| Proteína                        | 3,13                 | 3,12  | 3,11  | 0,01 | 0,90         | 0,55  | 0,87  |
| Caseína                         | 2,45                 | 2,45  | 2,43  | 0,01 | 0,97         | 0,62  | 0,78  |
| Lactose                         | 4,57                 | 4,57  | 4,58  | 0,01 | 0,98         | 0,68  | 0,85  |
| Sólidos totais                  | 11,89                | 11,74 | 11,82 | 0,04 | 0,17         | 0,74  | 0,44  |
| ECS                             | 3,11                 | 3,16  | 3,01  | 0,10 | 0,92         | 0,80  | 0,63  |
| NUL (mg.dL <sup>-1</sup> )      | 15,82                | 16,56 | 16,66 | 0,30 | 0,27         | 0,23  | 0,97  |
| NUL (g.d <sup>-1</sup> )        | 5,41                 | 5,68  | 5,58  | 0,12 | 0,37         | 0,71  | 0,81  |
| Energia (Mcal.d <sup>-1</sup> ) | 22,01                | 21,51 | 21,65 | 0,24 | 0,44         | 0,61  | 0,90  |

FS = Tratamento sem substituição de farelo de soja; UC = tratamento com substituição parcial do farelo de soja por ureia pecuária convencional; UP = tratamento com substituição parcial do farelo de soja por ureia protegida; EPM= erro padrão da média; PLCG = Produção de leite corrigida para 3,5% de gordura; PLCE = Produção de leite corrigida para energia; ECS = Escore de células somáticas por transformação logarítmica; NUL = Nitrogênio ureico no leite.

Resultados semelhantes foram encontrados por Santos et al. (2011), ao substituírem parcialmente o farelo de soja por cerca de 0,6% de ureia encapsulada ou ureia convencional na matéria seca da dieta de vacas em lactação. Esses autores relataram uma manutenção na produção de leite juntamente com uma menor ingestão de matéria seca (IMS), demonstrando assim um incremento na eficiência alimentar de 1,344 kg no grupo controle para 1,396 kg no grupo com ureia encapsulada.

Comportamento semelhante foi observado por Giallongo et al. (2015), que ao compararem dietas para vacas em lactação com e sem inclusão de 0,4% de ureia encapsulada e ambas com deficiência em proteína metabolizável (PM) (de acordo com as exigências do NRC 2001), não encontraram diferenças na PL e na PLCE.

Ambos os trabalhos citados acima, utilizaram fontes energéticas em diferentes níveis entre as dietas com e sem ureia. No presente estudo para ajuste da MS entre os tratamentos, foi utilizado milho moído nas dietas contendo ureia protegida ou convencional.

Agle et al. (2010) compararam dietas com ureia encapsulada porém com diferentes inclusões de milho moído e observaram que o acréscimo de energia na forma de amido diminuiu significativamente a concentração de amônia ruminal e consequentemente melhorou a eficiência na utilização de nitrogênio (N) para a síntese de leite, visto que as produções diárias foram de 36,0 e 33,2 kg.leite.dia<sup>-1</sup> na dieta com maior e menor inclusão de milho, respectivamente.

Entretanto, a adição de amido em dietas de vacas leiteiras deve ser cautelosa, pois no mesmo trabalho citado anteriormente (Agle et al., 2010), houve depressão no teor (%) e produção (kg.dia<sup>-1</sup>) de gordura do leite, bem como uma queda na PLCG a 4%. Isso evidenciou claramente um efeito negativo sobre o ambiente ruminal e consequentemente depressão na síntese de gordura pela glândula mamária (Bauman et al., 2008).

Outros autores, que trabalharam com ureia protegida em substituição ao farelo de soja também não encontraram diferenças significativas em PL (Souza et al., 2010) e PL e produções de sólidos do leite (kg.d<sup>-1</sup>) (Golombeski et al., 2006). Neal et al. (2014) também não encontraram diferenças significativas na PLCG e PLCE, quando adicionaram 0,49% de ureia protegida à dieta de vacas em lactação.

Em relação à inclusão de ureia convencional, trabalhos demonstram que inclusões de cerca de 1,9% da MS da dieta (Brito e Broderick, 2007; Gonçalves et al., 2014), ou seja, acima dos níveis recomendados, podem acarretar em menor IMS, menor PL, além de menores PLCG e PLCE, diminuindo como um todo a eficiência produtiva dos animais. Oliveira et al. (2004), ao utilizarem três níveis diferentes de inclusão de ureia convencional com base na MS da dieta (0,70, 1,40 e 2,10%) de vacas em lactação, também encontraram quedas

significativas na IMS nos níveis acima de 1%, entretanto, a PLCG a 3,5% não apresentou queda nesses mesmos tratamentos.

Já Galo et al. (2003) ao compararem o desempenho de vacas recebendo dietas com 0,3% de ureia convencional ou 0,7% de ureia protegida na MS da dieta, não encontraram diferenças significativas em PL e em IMS, os autores atribuíram esses resultados à uma possível perda na proteção da ureia devido aos danos físicos da camada protetora durante o processamento da dieta.

Alguns mecanismos podem estar envolvidos na queda de IMS devido à ingestão de ureia, porém a diminuição por baixa palatabilidade da ureia parece não ser um fator importante de queda na IMS, quando animais recebem ureia encapsulada misturadas em uma DTM (Santos et al., 2011). Há trabalhos demonstrando também que infusões intrarruminais de ureia afetam negativamente a IMS, levando a crer que existem mecanismos depressores sistêmicos (Wilson et al., 1975).

Esses mecanismos parecem estar relacionados a uma acidificação das células epiteliais quando essas absorvem grandes quantidades de amônia do rúmen (Visek et al., 1968), causando assim uma diminuição da motilidade ruminal (Antonelli et al., 2004) e consequente menor IMS (Juhász e Szegedi, 1983).

No presente estudo não foram observadas diferenças significativas ( $p>0,05$ ) no teor e na produção de gordura do leite entre os tratamentos (Tabela 04). Esses resultados diferem parcialmente de Souza et al. (2010), que ao adicionarem ureia protegida (0,4% da MS) em substituição parcial ao farelo de soja, encontraram uma queda somente no teor como porcentagem de gordura do leite e não na produção desse componente em  $\text{kg.dia}^{-1}$ .

Silveira et al. (2012), obtiveram resultados distintos dos observados nesse trabalho. Encontraram uma redução no teor de gordura do leite de 3,82 para 3,75 ao adicionarem ureia protegida (7,5% da matéria original) e milho moído em substituição parcial ao farelo de soja na dieta de vacas em lactação.

Santos et al. (2011) trabalharam com dietas contendo ureia convencional ou ureia protegida, em substituição ao farelo de soja e não encontraram diferenças na produção de gordura do leite, porém os autores não realizaram a comparação entre os dois tipos de ureia. Broderick e Reynal (2009) também não encontraram diferenças no teor e na produção de gordura do leite, quando

da inclusão de níveis de ureia convencional variando entre 0,41 a 1,31% da MS da dieta de vacas em lactação.

Há autores que citam uma possível elevação da gordura do leite com o uso de ureia protegida na dieta de vacas em lactação (Highstreet et al., 2010). Isso ocorreria devido à uma estabilização da fermentação ruminal e consequentemente mudança no perfil de ácidos graxos voláteis (AGV) absorvidos pelo animal.

As produções diárias e os teores de proteína, caseína, lactose e sólidos totais do leite não apresentaram diferenças significativas ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos do presente estudo (Tabela 04). Consequentemente a excreção de energia no leite em  $\text{Mcal.kg.d}^{-1}$  também não foi afetada pelos diferentes tratamentos.

Esses resultados corroboram os resultados obtidos por Santos et al. (2011), Silveira et al. (2012) e Inostroza et al. (2010), que não relataram diferenças nos parâmetros citados. Já Souza et al. (2010), obtiveram uma diferença significativa no teor de sólidos do leite quando ureia protegida substituiu parcialmente o farelo de soja na dieta.

Quando Highstreet et al. (2010) compararam ureia convencional à ureia protegida por gordura, foram encontradas diminuições significativas nos teores e produções de gordura, proteína e sólidos totais do leite nos animais que receberam ureia convencional. Esses resultados afetaram negativamente a energia excretada no leite, que também foi menor nesse grupo ( $131,8 \times 136 \text{ MJ.d}^{-1}$ ), esses resultados foram relacionados à uma fermentação ruminal mais estável quando a ureia protegida foi usada, com picos de amônia menores e mais curtos.

Broderick e Reynal (2009), encontraram uma diminuição de somente 0,05 kg na produção diária de proteína do leite quando os animais receberam 0,41% de ureia convencional na MS da dieta, essa diminuição foi maior com os níveis crescentes de 0,84 e 1,31% de ureia convencional, sendo que o último nível de inclusão também afetou negativamente a produção de lactose em  $\text{kg.d}^{-1}$ , porém, essas diferenças não foram encontradas nos teores de ambos os componentes citados (proteína e lactose).

Não houve diferença significativa ( $p>0,05$ ) nos valores de CCS entre os grupos. Demonstrando que não houve diferenças significativas ( $p>0,05$ ) na saúde da glândula mamária nas vacas participantes do estudo.

Os valores de NUL ( $\text{mg.dL}^{-1}$  e  $\text{g.d}^{-1}$ ) e os teores de caseína não apresentaram diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre os grupos (Tabela 04), demonstrando que a utilização do N pelas bactérias ruminais foi semelhante nos diferentes tratamentos.

Aquino et al. (2009), também não encontraram diferenças nos teores de caseína e de ureia no leite de vacas alimentadas com 0,75 e 1,50% de ureia convencional em substituição ao farelo de soja. Segundo esses autores, não há prejuízos no rendimento industrial do leite de vacas alimentadas com inclusões de ureia em níveis de até 1,50% na MS da DTM, já que as quantidades absolutas e também as relações entre esses componentes do leite não variaram.

Highstreet et al. (2010), não observaram diferenças nos teores de NUL entre vacas no terço inicial de lactação recebendo ureia convencional ou ureia protegida. Entretanto, houve um aumento no NUL no leite de vacas em terço médio de lactação recebendo ureia convencional, resultado que difere do presente estudo.

Silveira et al. (2012), não encontraram diferenças no NUL somente quando ureia protegida foi adicionada à dieta de vacas leiteiras juntamente com milho moído, todavia, quando a adição foi acompanhada de silagem de milho, os teores de NUL variaram entre os grupos. Esses resultados vão de encontro aos obtidos por Santos et al. (2011), que relatou maiores níveis de NUL quando os animais foram alimentados com ureia convencional juntamente com polpa cítrica, em comparação a um grupo controle. Isso demonstra que quando a ureia é utilizada com fontes de energia de menor disponibilidade ruminal quando comparadas ao milho moído, pode haver menor utilização de amônia e maior escape de N do rúmen sob a forma de amônia.

Outro fator que pode ter contribuído para a similaridade dos resultados de NUL entre os tratamentos, é o teor de PB igual entre os tratamentos. Autores demonstram que o teor de PB é o principal fator relacionado a variações no NUL (Hof et al., 1997; Aguilar et al., 2012). Além disso, a reciclagem de N em ruminantes parece ser um mecanismo importante para o reaproveitamento

desse N pelas bactérias ruminais (Reynolds e Kristensen, 2008), o que pode explicar a ausência de diferenças ( $p>0,05$ ) em NUL.

Os resultados de produção e composição do leite demonstram que a ureia protegida por nanopartículas proteicas, pode manter um ambiente ruminal adequado aos microrganismos ruminais, sem prejuízo à digestibilidade dos alimentos, por exemplo.

A ureia convencional quando fornecida juntamente com quantidades suficientes de fontes de amido, também manteve o ambiente ruminal adequado no presente estudo, provavelmente mantendo a multiplicação bacteriana em níveis adequados à uma boa digestibilidade dos alimentos. Isso se deve ao fato de que a energia na forma de amido é o fator dietético mais importante na eficiência e na intensidade da síntese de proteína no rúmen (Agle et al., 2010).

### ***Parâmetros urinários e de bioquímica sanguínea***

Não foram encontradas diferenças significativas ( $p>0,05$ ) nos resultados de peso vivo, proteínas séricas, albumina, ureia urinária e produção de urina entre os grupos (Tabela 05).

Os resultados de proteínas séricas e albumina são semelhantes aos encontrados por Calomeni (2011), que ao fornecer ureia com dois tipos de encapsulamento, não encontrou diferenças na comparação de ambas as ureias com o controle e com a ureia convencional. Levando-se em conta que as proteínas sanguíneas podem contribuir com cerca de 15 a 40% do total de proteínas sintetizadas no tecido hepático (Kozloski, 2011), pode-se perceber que ambas as ureias não afetaram o metabolismo de aminoácidos no fígado.

Os resultados de produção de urina parecem estar superestimados, uma vez que diversos trabalhos, com dietas e vacas de pesos e produções semelhantes ao do presente estudo, demonstram produções urinárias expressivamente menores (Broderick, 2003; Galo et al., 2003; Broderick e Reynal, 2009; Santos et al., 2011). Entretanto, Valadares et al. (1999), relataram produções urinárias semelhantes (cerca de 47 L.d<sup>-1</sup>) utilizando a mesma constante de excreção de creatinina (29 mg.kg<sup>-1</sup> PV).

Highstreet et al. (2010) trabalharam com ureia convencional ou protegida com vacas no terço inicial ou terço médio de lactação e encontraram produções

estimadas próximas as do presente estudo, com produções de 47,3 e 48,6 L.d<sup>-1</sup> para o grupo com ureia convencional e de 46,4 e 45,2 L.d<sup>-1</sup> para o grupo com ureia protegida, para vacas do terço inicial e médio de lactação, respectivamente.

**Tabela 05.** Resultados de bioquímica sanguínea, de parâmetros e estimativas urinárias e peso dos animais dos diferentes grupos experimentais, em valores médios por tratamento.

| Parâmetros                              | Dietas Experimentais |         |         | EPM   | Valores de p |       |       |
|-----------------------------------------|----------------------|---------|---------|-------|--------------|-------|-------|
|                                         | FS                   | UC      | UP      |       | FSxUC        | FSxUP | UCxUP |
| mg.dL <sup>-1</sup>                     |                      |         |         |       |              |       |       |
| Proteínas totais (mg.dL <sup>-1</sup> ) | 7,66                 | 7,63    | 7,56    | 0,05  | 0,95         | 0,54  | 0,73  |
| Albumina (mg.dL <sup>-1</sup> )         | 2,78                 | 2,74    | 2,80    | 0,02  | 0,37         | 0,81  | 0,13  |
| Creatinina urina (mg.dL <sup>-1</sup> ) | 44,69                | 42,14   | 47,88   | 1,62  | 0,71         | 0,58  | 0,16  |
| Ureia urinária (mg.dL <sup>-1</sup> )   | 1189,26              | 1199,22 | 1306,93 | 52,53 | 0,99         | 0,47  | 0,51  |
| Excreções diárias                       |                      |         |         |       |              |       |       |
| Creatinina urinária (mmol)              | 144,41               | 144,33  | 144,58  | 1,23  | 0,96         | 0,84  | 0,66  |
| Ureia urinária (g)                      | 500,76               | 534,43  | 573,44  | 22,05 | 0,80         | 0,35  | 0,73  |
| Produção de urina (L)                   | 57,38                | 58,44   | 49,76   | 3,10  | 0,98         | 0,33  | 0,22  |
| N-ureico urinário <sup>1</sup> (g)      | 231,31               | 246,17  | 263,78  | 10,14 | 0,81         | 0,38  | 0,73  |
| kg                                      |                      |         |         |       |              |       |       |
| Peso vivo                               | 679,57               | 678,86  | 679,86  | 5,81  | 0,86         | 0,97  | 0,74  |

FS = Tratamento sem substituição de farelo de soja; UC = tratamento com substituição parcial do farelo de soja por ureia pecuária convencional; UP = tratamento com substituição parcial do farelo de soja por ureia protegida. EPM = erro padrão da média.

<sup>1</sup>= ureia urinária x 0,466.

Os valores de N-ureico excretado diariamente via urinária não diferiram significativamente entre os grupos (Tabela 05). A redução da excreção de nitrogênio via urina, demonstra uma correlação positiva com a menor excreção de N por via fecal (Hristov et al., 2011; Lee et al., 2012). Essas informações demonstram que os tratamentos foram iguais sob o ponto de vista de impacto ambiental.

Broderick e Reynal (2009) ao utilizarem diferentes níveis de ureia convencional na dieta de vacas em lactação (0,41 a 1,31% da MS), observaram níveis mais altos de excreção de N-ureico nas menores produções de urina. O mesmo comportamento foi encontrado por Giallongo et al. (2015),

ao compararem duas dietas deficientes em PM, uma delas, com 0,4% de ureia protegida com base na MS.

Galo et al. (2003) relataram maiores excreções de N-ureico na urina de vacas que receberam ureia protegida em comparação ao grupo sem ureia. Esses autores atribuíram a maior excreção de N na urina devido a uma menor utilização do N pelas bactérias ruminais, porém as maiores excreções de N na urina foram encontradas juntamente com as maiores produções de urina, resultado que difere dos apresentados no presente estudo.

Os resultados de alantoína urinária não diferiram ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos (Tabela 06), demonstrando assim que não houve diferenças na síntese e na absorção de proteína microbiana (Pmic) entre os tratamentos.

**Tabela 06.** Resultados relacionados à alantoína urinária e síntese de proteína microbiana.

| Parâmetros                        | Dietas Experimentais |        |        | EPM   | Valores de p |       |       |
|-----------------------------------|----------------------|--------|--------|-------|--------------|-------|-------|
|                                   | FS                   | UC     | UP     |       | FSxUC        | FSxUP | UCxUP |
| Alantoína (mmol.L <sup>-1</sup> ) | 10,77                | 10,34  | 10,80  | 0,37  | 0,86         | 0,42  | 0,18  |
| Alantoína (mmol.d <sup>-1</sup> ) | 521,02               | 536,34 | 562,13 | 26,64 | 0,97         | 0,82  | 0,92  |
| Alantoína:creatinina              | 3,01                 | 3,10   | 3,17   | 0,15  | 0,97         | 0,91  | 0,98  |

FS = Tratamento sem substituição de farelo de soja; UC = tratamento com substituição parcial do farelo de soja por ureia pecuária convencional; UP = tratamento com substituição parcial do farelo de soja por ureia protegida. EPM = erro padrão da média.

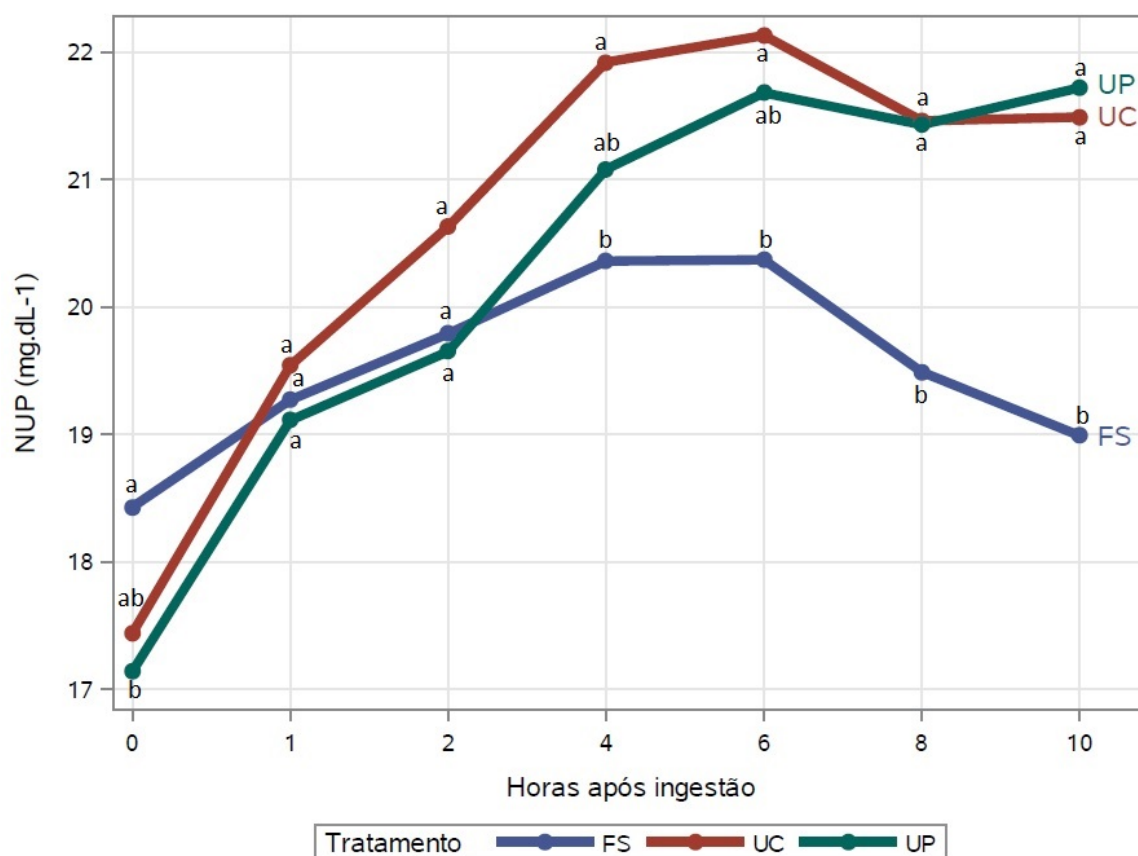
A avaliação da excreção de derivados de purina na urina fornece estimativas confiáveis da produção de proteína microbiana no rúmen, pois o principal derivado excretado na urina de bovinos é a alantoína (Valadares et al., 1999). Neal et al. (2014) demonstraram que a relação alantoína: creatinina pode ser utilizada com sucesso para esse fim.

Santos et al. (2011) não encontraram diferenças na relação alantoína: creatinina e na excreção diária de alantoína em mmol.d<sup>-1</sup>, em vacas leiteiras alimentadas com ureia protegida. O mesmo resultado foi observado por Neal et al. (2014), que ao adicionarem 0,49% de ureia protegida em substituição à uma mistura de farelo de soja e de canola não obtiveram aumento significativo nesses parâmetros. Já Galo et al. (2003), ao compararem o fornecimento de

ureia convencional a ureia protegida para vacas em lactação, não encontraram diferenças nas excreções em  $\text{mmol.d}^{-1}$  desse derivado de purina.

Os valores de NUP encontrados nos diferentes grupos apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) com 0, 4, 6, 8 e 10 horas após a alimentação da manhã (Figura 01).

**Figura 01.** Gráfico dos valores de NUP dos diferentes tratamentos (FS, UC, UP) nos diferentes tempos de coleta após o fornecimento da manhã.



NUP = nitrogênio ureico plasmático em  $\text{mg.dL}^{-1}$ ; FS = Tratamento sem substituição de farelo de soja; UC = tratamento com substituição parcial do farelo de soja por ureia pecuária convencional; UP = tratamento com substituição parcial do farelo de soja por ureia protegida. EPM = erro padrão da média.

Nota: Letras diferentes no mesmo horário significam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

No T0 o maior valor médio foi encontrado no grupo FS ( $18,43 \text{ mg.dL}^{-1}$ ), enquanto que no T3, T4 e T5 os maiores valores foram do grupo UC (21,92, 22,13 e  $21,46 \text{ mg.dL}^{-1}$ , respectivamente). Em todos os horários os valores de NUP para os grupos UC e UP foram iguais ( $p > 0,05$ ) (Tabela 07).

**Tabela 07.** Resultados de NUP dos diferentes grupos experimentais e em diferentes tempos de coleta.

| Parâmetros          | Dietas Experimentais |                     |                     | EPM  | Valores de p |         |        |
|---------------------|----------------------|---------------------|---------------------|------|--------------|---------|--------|
|                     | FS                   | UC                  | UP                  |      | FSxUC        | FSxUP   | UCxUP  |
| mg.dL <sup>-1</sup> |                      |                     |                     |      |              |         |        |
| NUP T0              | 18,43 <sup>a</sup>   | 17,44 <sup>ab</sup> | 17,14 <sup>b</sup>  | 0,41 | 0,07         | 0,01    | 0,78   |
| NUP T1              | 19,27                | 19,54               | 19,10               | 0,46 | 0,86         | 0,94    | 0,67   |
| NUP T2              | 19,79                | 20,63               | 19,65               | 0,45 | 0,26         | 0,96    | 0,16   |
| NUP T3              | 20,36 <sup>a</sup>   | 21,92 <sup>b</sup>  | 21,08 <sup>ab</sup> | 0,47 | 0,02         | 0,43    | 0,32   |
| NUP T4              | 20,37 <sup>a</sup>   | 22,13 <sup>b</sup>  | 21,68 <sup>ab</sup> | 0,52 | 0,02         | 0,11    | 0,76   |
| NUP T5              | 19,49 <sup>a</sup>   | 21,46 <sup>b</sup>  | 21,43 <sup>b</sup>  | 0,53 | 0,0024       | 0,0027  | 0,9989 |
| NUP T6              | 18,99 <sup>a</sup>   | 21,49 <sup>b</sup>  | 21,72 <sup>b</sup>  | 0,53 | <0,0001      | <0,0001 | 0,9129 |
| NUP médio           | 19,52                | 20,65               | 20,25               |      |              |         |        |

Letras diferentes na mesma linha, significam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as médias e letras iguais significam que não há diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as médias.

FS = Tratamento sem substituição de farelo de soja; UC = tratamento com substituição parcial do farelo de soja por ureia pecuária convencional; UP = tratamento com substituição parcial do farelo de soja por ureia protegida. EPM = erro padrão da média. NUP = nitrogênio ureico no plasma.

T0 = 0h; T1 = 01h; T2 = 02h; T3 = 04h; T4 = 06h; T5 = 08h e T6 = 10h, em relação à alimentação matinal.

O pico de NUP encontrado em todos os tratamentos se deu em torno de 4 a 6 horas após a alimentação da manhã. Esse resultado vai de encontro ao relatado por Highstreet et al. (2010), que citam que o pico de ureia plasmática geralmente ocorre entre 1 e 4 horas após a ingestão.

Já Santos et al. (2011), encontraram os picos de NUP cerca de 2 horas após a ingestão matinal de ureia convencional ou ureia protegida. Esses autores também citam que o pico de NUP não foi encontrado na alimentação da tarde, provavelmente devido ao menor pH ruminal e também ao pico de degradação de carboidratos, ambos acontecendo nesse período (Salvador et al., 2008).

O pH influencia diretamente na forma e consequentemente na absorção da amônia presente no rúmen. Em pH próximo da neutralidade a forma não protonada está em maior proporção, essa forma também apresenta maiores taxas de absorção em relação à forma protonada, que está presente em maior proporção em pH ácido (Abdoun et al., 2007), o que provavelmente contribuiu

para que os valores de NUL não se alterassem entre os grupos, mesmo com valores de NUP maiores nos tratamentos com ambas as ureias.

## **CONCLUSÃO**

A adição de até 0,59% de ureia protegida por nanopartículas e de 0,52% de ureia convencional na MS da DTM de vacas em lactação, não alteram a produção e composição do leite, bem como as variáveis urinárias nesses animais, indicando que sua utilização mantém um ambiente ruminal adequado para a produção leiteira.

Sob o ponto de vista de absorção de amônia no rúmen, a proteção da ureia por nanopartículas proteicas não foi capaz de diminuir a velocidade de absorção, já que o grupo UP obteve resultados de NUP semelhantes aos do grupo UC.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdoun K, Stumpff F, Martens H. Ammonia and urea transport across the rumen epithelium: A review. *Animal Health Research Review*. 2007; 7: 1-17.

Agle M, Hristov AN, Zaman S, Schneider C, Ndegwa PM, Vaddella VK. Effect of dietary concentrate on rumen fermentation, digestibility, and nitrogen losses in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2010; 93:4211-4222.

Aguilar M, Hanigan MD, Tucker HA, Jones BL, Garbade SK, McGilliard ML, Stallings CC, Knowlton KF, James RE. Cow and herd variation in milk urea nitrogen concentrations in lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 2012; 95: 7261-7268.

Antonelli AC, Mori CS, Soares PC, Kitamura SS, Ortolani EL. Experimental ammonia poisoning in cattle fed extruded or prilled urea: clinical findings. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 2004; 41: 67-74.

Aquino AA, Peixoto KCJ, Gigante ML, Rennó FP, Prada e Silva LF, Santos MV. Efeitos de níveis crescentes de uréia na dieta de vacas leiteira sobre a composição e rendimento de fabricação de queijos minas frescal. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 2009; 46: 273-279.

Bauman DE, Perfield JW, Harvatine KJ, Baumgard LH. Regulation of fat synthesis by conjugated linoleic acid: Lactation and the ruminant model. *The Journal of Nutrition*. 2008; 138: 403-409.

Boerman JP, Potts SB, VandeHaar MJ, Lock AL. Effects of partly replacing dietary starch with fiber and fat on milk production and energy partitioning. *Journal of Dairy Science*. 2015; 98: 7264-7276.

Brito AF, Broderick GA. Effects of different protein supplements on milk production and nutrient utilization in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2007; 90: 1816-1827.

Broderick GA, Reynal SM. Effect of source of rumen-degraded protein on production and ruminal metabolism in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2009; 92: 2822-2834.

Broderick GA. Effects of varying dietary protein and energy levels on the production of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2003; 86: 1370-1381.

Calomeni GD. Utilização de ureia encapsulada de liberação lenta na alimentação de vacas em lactação (Dissertação de Mestrado). Pirassununga, SP: Universidade de São Paulo; 2011.

Chen XB, Gomes MJ. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – An overview of the technical details. Bucksburn: International Feed Research Unit, 1992.

Galo E, Emanuele SM, Sniffen CJ, White JH, Knapp JR. Effects of a polymer-coated urea product on nitrogen metabolism in lactating holstein dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 2003; 86: 2154-2162.

Giallongo F, Hristov AN, Oh J, Frederick T, Weeks H, Werner J, Lapierre H, Patton RA, Gehman A, Parysll C. Effects of slow-release urea and rumen-

protected methionine and histidine on performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2015; 98: 3292-3308.

Golombeski GL, Kalscheur KF, Hippen AR, Schingoethe DJ. Slow-release urea and highly fermentable sugars in diets fed to lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2006; 89: 4395-4403.

Gonçalves GS, Pedreira MS, Azevedo JAG, Del Rei AJ, Silva HGO, Silva FF. Replacement of soybean meal by conventional and coated urea in dairy cows: intake, digestibility, production and composition of milk. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*. 2014; 36: 71-78.

Highstreet A, Robinson PH, Robison J, Garrett JG. Response of holstein cows to replacing urea with a slowly rumen released urea in a diet high in soluble crude protein. *Livestock. Science*. 2010; 129: 179-185.

Hof G, Vervoorn MD, Lenaers PJ, Tamminga S. Milk urea nitrogen as a tool to monitor the protein nutrition of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 1997; 80: 3333-3340.

Hristov AN, Hanigan M, Cole A, Todd R, McAllister TA, Ndegwa PM, Rotz A. Review: Ammonia emissions from dairy farms and beef feedlots. *Canadian Journal of Animal Science*. 2011; 91: 1-35.

Inostroza JF, Shaver RD, Cabrera VE, Tricárico JM. Effect of diets containing a controlled release urea product on milk yield, milk composition, and milk component yields in commercial Wisconsin dairy herds and economic implications. *Professional Animal Scientist*. 2010; 26: 175-180.

Juhász B, Szegedi B. Effects of disturbances of acid-base equilibrium on the activity of the rumen. *Acta Physica Hungarica*. 1983; 62: 7-17.

Kozloski GV. *Bioquímica dos ruminantes*. 3ª ed. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria; 2011.

Lapierre H, Lobley GE. Nitrogen recycling in the ruminant: A review. *Journal of Dairy Science*. 2001; 84: E223-E236.

Lee C, Hristov AN, Dell CJ, Feyereisen GW, Kaye J, Beegle D. Effect of dietary protein concentration on ammonia and greenhouse gas emitting potential of dairy manure. *Journal of Dairy Science*. 2012; 95: 1930-1941.

Lira FRA. *Determinação da concentração de nitrogênio uréico no plasma como ferramenta auxiliar no manejo sustentável em rebanhos leiteiros sergipanos (Dissertação de Mestrado)*. São Cristóvão, Sergipe: Universidade Federal do Sergipe; 2011.

Littell RC, Milliken GA, Stroup WW, Wolfinger RD, Schabenberger O. *SAS® for Mixed Models*. Second Edition. Cary, NC: SAS Institute Inc. 2006.

Mattos WRS. Limites da eficiência alimentar em bovinos leiteiros. *Anais da 41ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*; 2004; Campo Grande, Mato Grosso. p. 1-12.

National Research Council (NRC). *Nutrient requirements of dairy cattle*. 7<sup>th</sup> ed. Washington: National Academy, 2001.

Neal K, Eun JS, Young AJ, Mjoun K, Hall JO. Feeding protein supplements in alfalfa hay-based lactation diets improves nutrient utilization, lactational

performance, and feed efficiency of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2014; 97: 7716-7728.

Nelson DL, Cox MM. *Lehninger principles of biochemistry*. 4<sup>th</sup> ed. New York: W.H. Freeman, 2004.

Oliveira MMNF, Torres CAA, Valadares Filho SC, Santos ADF, Properi CP. Uréia para vacas leiteiras no pós-parto: desempenhos produtivo e reprodutivo. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2004; 33: 2266-2273.

Rajala-Shultz PJ, Saille WJA, Frazer GS, Wittum TE. Association between milk urea nitrogen and fertility in Ohio dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2001; 84: 482-489.

Reid JT. Urea as a protein replacement for ruminants: A review. *Journal of Dairy Science*. 1953; 36: 955-996.

Reynolds CK, Kristensen NB. Nitrogen recycling through the gut and the nitrogen economy of ruminants: an asynchronous symbiosis. *Journal of Animal Science*. 2008; 86: E293-E305.

Rhoads ML, Rhoads RP, Gilbert RO, Toole R, Butler WR. Detrimental effects of high plasma urea nitrogen levels on viability of embryos from lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science*. 2006; 91: 1-10.

Salvador SC, Pereira MN, Santo JF, Melo LQ, Chaves ML. Resposta de vacas leiteiras à substituição total de milho por poupa cítrica e à suplementação com microminerais orgânicos: I., Consumo e digestão. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2008; 60: 682-690.

Santos GT, Cavalieri FLB, Modesto EC. Recentes avanços em nitrogênio não protéico na nutrição de vacas leiteiras. *Anais do 2º Simpósio Internacional em Bovinocultura de Leite: Novos conceitos em nutrição*; 2001; Lavras, Minas Gerais. p. 199-228.

Santos JF, Dias Júnior GS, Bitencourt LL, Lopes NM, Siécola Júnior S, Silva JRM, Pereira RAN, Pereira MN. Resposta de vacas leiteiras à substituição parcial de farelo de soja por ureia encapsulada. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2011; 63: 423-432.

SAS Institute, 2016. *SAS User's Guide: Statistics*. Version 3.5. Copyright 2012-2016 SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

Silveira VA, Lopes NM, Oliveira RC, Gonzales B, Siqueira AV, Bier LPP, Zoni MS, Giardini W, Pereira RAN, Almeida R, Pereira MN. Substituição parcial de farelo de soja por ureia de liberação lenta em rebanhos leiteiros comerciais. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*. 2012; 13: 383-395.

Souza VL, Almeida R, Silva DFF, Piekarski PRB, Jesus CP, Pereira MN. Substituição parcial de farelo de soja por ureia protegida na produção e composição do leite. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2010; 62: 1415-1422.

Valadares RFD, Broderick GA, Valadares Filho SC, Clayton MK. Effect of Replacing Alfalfa Silage with High Moisture Corn on Ruminal Protein Synthesis Estimated from Excretion of Total Purine Derivatives. *Journal of Dairy Science*. 1999; 82: 2686-2696.

Vissek WJ. Nitrogen utilization by the ruminant: Some aspects of ammonia toxicity in animal cells. *Journal of Dairy Science*. 1968; 51: 286-295.

Wildman EE, Jones IGM, Wagner PE, Boman RL. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *Journal of Dairy Science*. 1982; 65: 495-501.

Wilson G, Martz FA, Campbell JR, Becker BA. Evaluation of factors responsible for reduced voluntary intake urea diets for ruminants. *Journal of Dairy Science*. 1975; 41: 1431-1437.

## CAPÍTULO 3

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados de produção e composição do leite, de bioquímica sanguínea, bioquímica urinária e de alantoína encontrados nas condições do presente estudo, mostram que a adição de ureia protegida por nanopartículas proteicas a níveis de até 0,59% da matéria seca da dieta, mantém um ambiente ruminal adequado à produção leiteira; fornecendo quantidades suficientes de proteína microbiana no intestino delgado, o que foi demonstrado pela relação alantoína: creatinina sem diferenças entre os grupos.

O fornecimento de fontes de amido juntamente com as de nitrogênio não proteico, mostrou ser imprescindível para a adequada utilização da amônia pelas bactérias ruminais, podendo ser utilizado estrategicamente em situações de substituição de concentrados proteicos por ureias.

Sob o ponto de vista de absorção de amônia no rúmen, a proteção da ureia por nanopartículas proteicas não foi capaz de diminuir a velocidade de absorção, já que o grupo UP obteve resultados de NUP semelhantes aos do grupo UC. A reciclagem de N demonstra ter papel importante no metabolismo desse nutriente pelos ruminantes, visto que mesmo com as maiores absorções de amônia ruminal nos grupo UC e UP, as excreções de nitrogênio via leite e urina não diferiram entre os três grupos.

Talvez níveis de inclusão de ureia mais próximos do limite recomendado (cerca de 1%), ou seja, maiores que os praticados no presente estudo e a não adição de fontes de amido (milho moído) possam exacerbar os possíveis efeitos negativos de ambas as ureias e apresentar diferenças significativas quando comparados à uma dieta sem substituição parcial do farelo de soja.

## ANEXO



Pontifícia Universidade Católica do Paraná  
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação  
Comitê de Ética em Pesquisa

Curitiba, 22 de maio de 2014.

### PARECER DE PROTOCOLO DE PESQUISA

**REGISTRO DO PROJETO:** 888 – 1ª Versão

**TÍTULO DO PROJETO:** Avaliação produtiva e reprodutiva de vacas alimentadas com uma dieta com substituição parcial do farelo de soja por ureia de liberação lenta.

**PESQUISADOR RESPONSÁVEL:** Cláudia Turra Pimpão

**EQUIPE DE PESQUISA:** Cláudia Turra Pimpão

#### INSTITUIÇÃO

Pontifícia Universidade Católica do Paraná

#### ESCOLA / CURSO:

Escola de Ciências Agrárias e Medicina Veterinária / Mestrado

| ESPÉCIE DE ANIMAL                           | SEXO   | IDADE / PESO           | CATEGORIA   | QUANTIDADE |
|---------------------------------------------|--------|------------------------|-------------|------------|
| <i>Bos taurus</i> (Vaca leiteira Holandesa) | Fêmeas | Adultas, 500 a 700 kg. | C / Mediato | 45         |

O colegiado do CEUA em reunião no dia 22/05/2014, avaliou o projeto e emite o seguinte parecer: **APROVADO.**

PUCPR de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificado e as suas justificativas.

Se houver mudança do protocolo o pesquisador deve enviar um relatório ao CEUA-PUCPR descrevendo de forma clara e sucinta, a parte do protocolo a ser modificado e as suas justificativas.

Se a pesquisa, ou parte dela for realizada em outras instituições, cabe ao pesquisador não iniciá-la antes de receber a autorização formal para a sua realização. O documento que autoriza o início da pesquisa deve ser carimbado e assinado pelo responsável da instituição e deve ser mantido em poder do pesquisador responsável, podendo ser requerido por este CEUA em qualquer tempo.

Lembramos ao pesquisador que é obrigatório encaminhar o relatório anual parcial e relatório final da pesquisa a este CEUA.

Atenciosamente,

Prof. Dra. Marta Luciane Fischer

Coordenadora

Comitê de Ética no Uso de Animais.

Profª Dra. Marta Luciane Fischer  
Coordenadora Comitê de Ética  
no uso de animais



Rua Imaculada Conceição, 1155 - Prado Velho - CEP 80.215-901 - Curitiba - Paraná - Brasil  
Caixa postal 17315 - CEP 80.242-980 - Telefone (41) 3271 2282 - www.pucpr.br