

**LUÍS HENRIQUE ANDREUCCI CONTI**

**Efeito do teor de proteína e fonte nitrogenada em dietas com cana-de-açúcar sobre frações  
protéicas do leite, balanço nitrogenado e parâmetros metabólicos sanguíneos de vacas  
lactantes**

---

Pirassununga

2011

**LUÍS HENRIQUE ANDREUCCI CONTI**

Efeito do teor de proteína e fonte nitrogenada em dietas com cana-de-açúcar sobre frações  
protéicas do leite, balanço nitrogenado e parâmetros metabólicos sanguíneos de vacas  
lactantes

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Nutrição Animal da Faculdade  
de Medicina Veterinária e Zootecnia da  
Universidade de São Paulo para obtenção do  
título de Mestre em Ciências

**Departamento:**

Nutrição e Produção Animal

**Área de Concentração:**

Nutrição e Produção Animal

**Orientador:**

Prof. Dr. Marcos Veiga dos Santos

Pirassununga

2011

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

#### DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínia Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.2477  
FMVZ

Conti, Luís Henrique Andreucci

Efeito do teor de proteína e fonte nitrogenada em dietas com cana-de-açúcar sobre frações protéicas do leite, balanço nitrogenado e parâmetros metabólicos sanguíneos de vacas lactantes / Luís Henrique Andreucci Conti. -- 2011.  
68 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2011.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.  
Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Veiga dos Santos.

1. Vacas leiteiras. 2. Fontes nitrogenadas. 3. Frações nitrogenadas do leite.  
4. Proteína microbiana. 5. Balanço nitrogenado. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
Comissão Bioética

## CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Fontes protéicas em dietas à base de cana-de-açúcar para vacas leiteiras", protocolado sob o nº 1634/2009, utilizando 12 (doze) bovinos, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Marcos Veiga dos Santos, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 18 de março de 2009.

We certify that the Research "Protein sources in diets based on sugar cane for dairy cows", protocol number 1634/2009, utilizing 12 (twelve) bovines, under the responsibility Prof. Dr. Marcos Veiga dos Santos, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 03/18/09.

São Paulo, 20 de março de 2009

Profa Dra Denise Tabacchi Fantoni  
Vice-Presidente da Comissão de Bioética  
FMVZ/USP

Prof. Dr. José Luis Bernardino Merusse  
Presidente da Comissão de Bioética - FMVZ/USP  
SP, 20/3/09



Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, nº87  
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"  
São Paulo/SP - Brasil  
05508-270

Fax: +55 11 3032-2224 / 3091-7757  
fone: + 55 11 3091-7671/7676  
E-mail: [fmvz@usp.br](mailto:fmvz@usp.br)  
<http://www.fmvz.usp.br>

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: CONTI, Luís Henrique Andreucci

Título: Efeito do teor de proteína e fonte nitrogenada em dietas com cana-de-açúcar sobre frações protéicas do leite, balanço nitrogenado e parâmetros metabólicos sanguíneos de vacas lactantes

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

### Banca Examinadora

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_

## **Dedicatória**

*A minha mãe Marilza Aparecida Andreucci, exemplo de força, por todo amor, carinho e atenção dedicados anos a fio, me educando, apoiando e estruturando, seja intelectual, profissional ou pessoalmente;*

*Ao meu avô, Horácio Antonio Cordoba Andreucci, homem de fibra, pelo amor paterno, por mostrar o caminho correto, honesto e digno que todo HOMEM deve ter;*

*A minha avó, Brandina Bertoletti Andreucci, pela preocupação e amor, que mesmo a distância é sentido;*

*A todos aqueles que me apoiaram e que acreditam que juntos poderemos continuar vencendo e fazer um novo recomeço.*

## *Agradeço...*

Primeiramente a Deus por permitir, me dar forças, calma para as decisões e sempre me acompanhar nesta jornada que não tem fim;

Aos familiares e amigos por todo apoio, carinho e compreensão;

As vacas 03, 06, 11, 569, 600, 634, 641, 650, 651, 666, 700 e 714 que permitiram a realização deste estudo;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), por financiar este projeto;

A Universidade de São Paulo, em especial, ao Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP/USP) por permitirem a realização deste curso;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcos Veiga dos Santos, pela orientação, ensinamentos, confiança e amizade;

Ao Prof. Dr. Francisco Palme Rennó, pelo auxílio durante as etapas de desenvolvimento e execução deste trabalho;

Aos professores Dr. Luis Felipe Prada e Silva, Dr. Paulo Henrique Mazza, Dr. Alexandre Gobesso, Dra. Angélica Simone Cravo Pereira, do Departamento de Nutrição e Produção e Animal, Dr. Valdo Rodrigues Herling, Dr. Marcus Antonio Zanetti, Dr. Saulo da Luz e Silva, Dr. Arlindo Saran Neto, Dr. Paulo Roberto Leme, Dr. Pedro Henrique de Cerqueira Luz, do Departamento de Zootecnia, pela colaboração e atenção dispensados no decorrer do curso;

Aos secretários, Sr. José Francisco M. Ferreira, Sra. Alessandra de Cássia T. da Silva, Sra. Fábila Silene Iaderoza e Sr. João Paulo de Oliveira Barros pela atenção dispensada;

Aos técnicos de laboratório Sr. José Franchini e Sra. Lucinéia Mestieri do Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal; ao Sr. Ari Luiz de Castro, Sr. Everson de Jesus Lázaro, Sra. Simi Luiza Durante Aflalo Robassini, Sr. Gilson Luiz Alves de Godoy e ao Sr. Flávio Perna do Laboratório de Bromatologia; Lígia Mesquita;

Ao Sr. Gilmar Edson Botteon, pelos ensinamentos, cooperação, caldos de cana e piadas;

A Prefeitura do Campus Administrativo de Pirassununga (PCAPS/USP) por ceder o local para a realização do experimento;

Aos Funcionários do Setor de Bovinocultura de Leite, Srs. Carlos Alberto Schimmitt, Antônio Carlos Baladore, José Antônio da Costa da Silva, João Paulo Pagotti, José Antônio da Silva,

Luís Tadeu de Oliveira, Valmir Donizetti Botteon e José Antônio Coelho pelo auxílio na condução do experimento, amizade e companheirismo;

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia Sr. Marcos Roberto Ferraz e pelas análises de solo e auxílio na implantação do canavial;

Aos funcionários da fábrica de ração da PCAPS, Srs. Fernando, Israel Andrietta, Cláudio de Jesus Aparecido São Romão e José Luiz Aparecido Landgraf, agradeço pela atenção e esforços dispensados;

As meninas da faxina (Cida, Maria, Cecília Suelen), que diariamente cuidam da limpeza do nosso ambiente de trabalho, tornando-o mais agradável e prazeroso, exceto pelo cheiro de almoço enquanto estávamos aula;

Aos “irmãos” Bruno Garcia Botaro, Marcos Aurélio Porcionato e Julianne Diniz Magalhães pelos puxões de orelha, conselhos e risadas, vocês são demais;

Ao Sr. Elmeson Ferreira de Jesus, que esteve presente em todas as etapas do projeto;

Aos amigos de mestrado, pelos bons momentos que vivemos e que tenho a certeza, ficarão marcados para sempre na memória: Nara Consolo, Dani Beuron, Cristina Simões Cortinhas, Juliana Regina Barreiro, Julianne de Resende Naves, Nara Carvalho, Camila Silano, Juliano Leonel Gonçalves, Milton Maturana, Paulinha Duarte, Carolina Malek, Carolina Tobias, Daniela Maria Geronimo, Anaí Baci Naves, Rafael Barleta, Marília Vidal, Lenita Camargo Verdurico, José Esler de Freitas Jr., Jefferson Gandra, Gustavo Calomeni (Sacudo), Rodrigo Gardinal (Komixão), Rodolfo Mengoti (Badah), Rui de Almeida Silva Jr.(Libido), Bruno de S. Mesquita (Xacrete); Fernanda Taran, Maria Fernanda Burbarelli, Esther Ramalho Afonso, Larissa José Parazzi, Ana Paula Xaves de Araújo, Beatriz Venturelli, Iaçanã (Bixuca), Alejandro Vargas Velasques, Barbara Santos Marques;

Aos amigos de graduação e que sempre estão por perto: Paulo Henrique Marques (Mini), Marcos Cesar Augusto Fernandes (Cavalo), Davi Savietto (Bidó), Felipe Gonçalves (Napa), Lucas de Santis (By-to), José Otavio Ferreira de Paulo (Rato), Luis Gustavo Barbosa (Lambe), Ester Menezes, Sabrina Funari, Bianca Dognini, Raquel Cardoso Franco, Dimas de Oliveira, Priscila Pedra (Galeto);

Aos ex-estagiários e atuais mestrados do VNP Susana Nori Macedo, Tiago Tomazi (Negão), Marina Migliano (Nina);

*Um Muito Obrigado a Todos!!*



*“E mesmo que meus passos sejam falsos, mesmo que meus caminhos sejam errados, mesmo que meu jeito de levar a vida incomode, eu sei quem sou... E sei pelo que devo lutar. E se você acha que meu orgulho é grande, é porque nunca viu o tamanho da minha fé.” (Tião Carreiro)*

*“A alegria está na luta, na tentativa, no sofrimento envolvido.  
Não na vitória propriamente dita.” (Mahatma Gandhi)*

*“O correr da vida embrulha tudo. Ávida é assim, esquenta e esfria, aperta e depois afrouxa, quieta e depois desinquieta. O que ela quer da gente é coragem. O que Deus quer é ver a gente aprendendo a ser capaz de ficar alegre e amar, no meio da alegria. E ainda mais no meio da tristeza. Todo o caminho da gente é resvaloso, mas cair não prejudica demais, a gente levanta, a gente sobe, a gente volta”.*  
*(João Guimarães Rosa em “Grande Sertão Veredas”)*

## RESUMO

CONTI, L. H. A. **Efeito do teor de proteína e fonte nitrogenada em dietas com cana-de-açúcar sobre frações protéicas do leite, balanço nitrogenado e parâmetros metabólicos sanguíneos de vacas lactantes.** [Effect of crude protein content and nitrogen source with sugar cane diets on milk protein fraction, nitrogen balance and metabolic blood parameters of lactating dairy cows]. 2011. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2011.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do teor de proteína bruta (PB) e da fonte nitrogenada da dieta para vacas lactantes, utilizando cana-de-açúcar como volumoso sobre a síntese de proteína microbiana, composição da fração nitrogenada do leite, balanço nitrogenado e parâmetros metabólicos sanguíneos. Foram utilizadas 12 vacas Holandesas com média de 235 dias em lactação, agrupadas em três quadrados latinos contemporâneos 4x4, com período experimental de 21 dias, sendo 14 para adaptação as dietas e os 7 últimos para coletas. Os animais foram alimentados com rações isoenergéticas (1,29 Mcal/Kg de MS), com duas fontes nitrogenadas principais (farelo de soja e uréia) e dois teores de PB (14,5 e 16,0 %) na ração: A) 14,21% de PB e farelo de soja (FS) como fonte nitrogenada principal, com 65% de PDR, B) 15,57% de PB e FS, com 65% PDR, C) 14,23% de PB e Ureia, com 70% de PDR, D) 15,62% de PB e Ureia, com 70% PDR. Para a determinação da contagem de células somáticas e de nitrogênio ureico no leite (NUL) foram coletadas amostras de leite do 14º ao 18º dia de cada período. Para a determinação dos teores de proteína bruta, nitrogênio não protéico, nitrogênio não caseinoso, proteína verdadeira, caseína e proteína do soro do leite, foram coletadas amostras de leite do 18º ao 21º dia de cada período. Para a determinação da síntese de proteína microbiana foram coletadas amostras de leite e amostras *spot* de urina no 15º dia de cada período. A coleta de sangue foi realizada no 16º dia de cada período. Houve interação entre fonte nitrogenada e teor de PB da dieta sobre o NUL (mg/dL) e tendência de interação entre fonte nitrogenada e teor de PB da dieta sobre a excreção total de urina (L/dia) ( $P = 0,052$ ) e proteína verdadeira do leite do leite (%) ( $P = 0,06$ ). A excreção total de urina (L/dia), o NUL e a uréia no soro foram maiores para as dietas com 16% de PB, independentemente da fonte nitrogenada. As dietas com uréia como fonte nitrogenada principal apresentaram maior concentração de albumina sanguínea (g/L). Houve maior eficiência nitrogenada para as dietas com 14,5% de PB.

Palavras-chave: Vacas leiteiras. Fontes nitrogenadas. Frações nitrogenadas do leite. Proteína microbiana. Balanço nitrogenado.

## ABSTRACT

CONTI, L. H. A. **Effect of crude protein content and nitrogen source with sugar cane diets on milk protein fraction, nitrogen balance and metabolic blood parameters of lactating dairy cows.** [Efeito do teor de proteína e fonte nitrogenada em dietas com cana-de-açúcar sobre frações protéicas do leite, balanço nitrogenado e parâmetros metabólicos sanguíneos de vacas lactantes]. 2011. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2011.

The aim of this study was to evaluate effects of crude protein (CP) content and dietary nitrogen source for lactating cows using cane sugar as forage on microbial protein synthesis, composition of milk nitrogen fraction, nitrogen balance and blood parameters. Twelve Holstein cows (235 days in milk) were allocated in three Latin squares balanced 4x4, with a trial period of 21 days where 14 days were for diet adaptation and the last seven for sample collection. The animals receive isocaloric diets (1.29 Mcal / kg DM), with two major nitrogen sources (soybean meal and urea) and two crude protein levels (14.5 and 16.0%): A) 14.21% CP, soybean meal (SBM) as the main nitrogen source, with 65% PDR, B) 15.57% CP as SBM and 65% PDR, C) 14.23% CP and urea as the main nitrogen source, with 70% PDR, D) 15.62% CP as urea and 70% PDR. To determine the somatic cell count and milk urea nitrogen, milk samples were collected from day 14<sup>th</sup> to 18<sup>th</sup> of each period. To determine crude protein, non-protein nitrogen, non-casein nitrogen, true protein, casein and whey protein, milk samples were collected from day 18<sup>th</sup> to 21<sup>st</sup> of each period. To determine microbial protein synthesis milk and spot urine samples were collected at day 15<sup>th</sup> of each period. Blood collection was performed on the 16th day of each period. There was interaction between nitrogen source and diet protein content on milk urea nitrogen (MUN), and interaction tendency on urine excretion (L/day) ( $P = 0.052$ ) and milk true protein (%) ( $P = 0.06$ ). Total urine excretion (liters/day), MUN and urea in blood serum were higher for diets with 16% CP, regardless of nitrogen source. Diets with urea as main nitrogen source had higher concentration of blood albumin (g/L). There was higher nitrogen efficiency for diets with 14.5% CP.

**Keywords:** Dairy cows. Nitrogen sources. Production and milk composition. Microbial protein synthesis. Nitrogen balance.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Proporção dos ingredientes do concentrado, expressa na matéria seca (%MS).....	32
Tabela 2 - Composição percentual dos ingredientes nas dietas, expressa na matéria seca (%MS).....	33
Tabela 3 - Composição bromatológica dos ingredientes das dietas .....	34
Tabela 4 - Composição bromatológica dos concentrados.....	35
Tabela 5- Composição bromatológica das dietas.....	36
Tabela 6 - Médias ajustadas e coeficiente de variação (CV) da síntese de proteína microbiana em função das dietas.....	44
Tabela 7 - Médias ajustadas, coeficiente de variação (CV) e efeitos para as frações protéicas do leite em função das dietas.....	47
Tabela 8 - Médias ajustadas e coeficiente de variação (CV) para o balanço de nitrogênio em função das dietas .....	51
Tabela 9 - Médias ajustadas e coeficiente de variação (CV) dos metabólitos plasmáticos em função das dietas .....	54

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Interação entre a fonte nitrogenada e o teor de proteína bruta da dieta sobre o NUL.....	48
Figura 2 - Interação entre a fonte nitrogenada e o teor de proteína bruta da dieta sobre o colesterol HDL.....	55

## LISTA DE ABREVIações E NOMENCLATURAS

AA	Aminoácidos
AGV	Ácidos graxos voláteis
CMS	Consumo de matéria seca
CHOT	Carboidratos Totais
EE	Extrato etéreo
EL <sub>L</sub>	Energia líquida de lactação
FDA	Fibra em detergente ácido
FDA <sub>i</sub>	Fibra indigestível em detergente ácido
FDN	Fibra em detergente neutro
FS	Farelo de soja
GS	Grão de soja
MO	Matéria orgânica
MS	Matéria seca
N	Nitrogênio
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Amônio
N-NH <sub>3</sub>	Nitrogênio amoniacal
NRC	National Research Council
NUL	Nitrogênio ureico no leite
NUP	Nitrogênio ureico no plasma
PDR	Proteína degradável no rúmen
PM	Proteína metabolizável
Pmic	Proteína microbiana
PNDR	Proteína não degradável no rúmen
PV	Peso vivo
PVerd	Proteína verdadeira

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>17</b>
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>18</b>
3.1 A cana-de-açúcar na nutrição de ruminantes .....	18
3.2 Metabolismo do nitrogênio ruminal.....	19
3.3 O uso do nitrogênio não protéico para vacas leiteiras .....	24
3.4 Alimentação de vacas leiteiras com proteína não degradável no rúmen.....	26
3.5 Sincronização de proteína e energia .....	27
3.6 Parâmetros metabólicos sanguíneos.....	28
3.7 Composição nitrogenada do leite .....	29
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>31</b>
4.1 Local, Instalações e Animais .....	31
4.2 Rações Experimentais e Análise de Alimentos .....	31
4.3 Balanço de nitrogênio.....	37
4.4 Síntese de proteína microbiana.....	38
4.5 Frações nitrogenadas do leite e contagem de células somáticas .....	40
4.6 Parâmetros metabólicos sanguíneos .....	41
4.7 Delineamento experimental e análises estatísticas .....	42
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>43</b>
5.1 Síntese de proteína microbiana.....	43
5.2 Frações Nitrogenadas do leite.....	46
5.3 Balanço de nitrogênio .....	49
5.4 Parâmetros metabólicos sanguíneos .....	52
<b>6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>57</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>58</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A adequada alimentação dos animais é de fundamental importância para o sucesso da atividade leiteira. Para isso, as características dos alimentos e seu correto balanceamento nas rações para aquele tipo de animal. No Brasil, a produção de carne e leite a partir de pastagens naturais ou cultivadas sofre efeito da sazonalidade da produção forrageira durante o ano, ocorrendo um período de abundância em produção de forragem com bom valor nutritivo e outro com escassez de alimento, associado à redução do seu valor nutritivo.

A estacionalidade da produção de leite no Brasil vem diminuindo anualmente graças à melhoria da alimentação do rebanho, principalmente na estação seca. Nesse sentido, a cana-de-açúcar torna-se uma ferramenta fundamental, uma vez que sua utilização tem crescido de forma considerável nos rebanhos leiteiros durante o período de baixa disponibilidade de forragens (VILELA et al., 2007). Entretanto, os baixos teores de proteína, de lipídios, de minerais, a baixa digestibilidade da fibra, a ausência de amido e a presença de carboidratos de rápida fermentação reduzir o consumo de matéria seca (CMS), o que exige atenção especial durante a formulação das rações (DEMARCCHI, 2001).

O aumento cada vez maior dos requerimentos para maximização da produção animal tem impulsionado a intensificação dos sistemas de produção. A melhora na genética dos animais para maior produção de leite resulta em maior exigência energética e protéica da dieta, para garantir quantidade suficiente de proteína metabolizável para máxima produção de leite.

O *National Research Council* (NRC, 2001) para bovinos leiteiros divide a exigência protéica em proteína degradável no rúmen (PDR) e proteína não degradável no rúmen (PNDR). A primeira deve suprir as exigências dos microorganismos ruminais, enquanto a segunda, deve complementar a proteína que chega ao abomaso. É de fundamental importância maximizar a síntese de proteína microbiana e, para que esta ocorra, é necessário que se tenha PDR, em quantidade e qualidade, associada a fontes de carboidratos para o crescimento microbiano (RUSSELL et al., 1992).

Vários estudos combinaram fontes nitrogenadas com silagem de milho ou a substituição parcial ou total da silagem de milho por cana-de-açúcar como volumoso sobre o CMS, produção e composição do leite e variáveis ruminais (PRESTON, 1982;



MAGALHAES et al., 2004; MENDONÇA et al., 2004). Entretanto, poucos estudos avaliaram a qualidade do leite, principalmente a composição da fração nitrogenada do leite (ROSELER et al., 1993; BAKER et al., 1995; AQUINO et al., 2007). É comum expressar os resultados de composição protéica do leite em proteína bruta ( $PB = N \times 6,38$ ), sem a avaliação da proteína verdadeira do leite ( $PVerd = PB - NNP$ ) e de suas frações: caseína e proteínas do soro.

A hipótese a ser testada é que a variação do teor de proteína bruta (14,5 ou 16,0% PB) da ração a partir da uréia ou do farelo de soja como fontes nitrogenadas na ração de vacas lactantes recebendo cana-de-açúcar como volumoso, não resulta em alteração na síntese de proteína microbiana, na composição da fração nitrogenada do leite, no balanço nitrogenado e nos parâmetros sanguíneos.

## 2 OBJETIVOS

Os objetivos específicos do presente estudo foram avaliar duas fontes nitrogenadas (farelo de soja e uréia) e o teor de proteína bruta da dieta (14,5 e 16,0% PB) para vacas lactantes recebendo cana-de-açúcar como volumoso sobre:

- a) Síntese de proteína microbiana;
- b) Frações nitrogenadas do leite (proteína bruta, caseína, proteína verdadeira, proteínas do soro e nitrogênio ureico no leite) e contagem de células somáticas (CCS);
- c) Balanço nitrogenado (excreção de nitrogênio nas fezes, urina e leite, eficiência produtiva);
- d) Parâmetros sanguíneos (glicose, colesterol total, colesterol-HDL, uréia, nitrogênio uréico sérico, proteínas totais, albumina e enzimas aspartato sintetase e gama glutamil transferase).

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 A cana-de-açúcar na nutrição de ruminantes

A cana-de-açúcar é tida como umas das principais culturas do território nacional, apresentando grande importância econômica. Estima-se que a área destinada a esta cultura no ano safra 2010-2011 foi de 8.033,6 mil hectares (ha), distribuída em todos estados produtores, e com aumento de 8,40% em relação a safra anterior. O Estado de São Paulo detém 54,23% da área cultivada (4.357,01 mil hectares), seguido por Minas Gerais, Paraná e Goiás (CONAB, 2011).

A produtividade média da planta inteira de cana cana-de-açúcar (colmo, folhas secas e ponteiros) é de cerca de 100 toneladas (ton) de matéria natural (MN) por hectare por ano (TAUPIER; RODRIGUES, 1999). Com o manejo adequado de variedades, técnicas de calagem e adubação, produtividades superiores a 100 ton de MN/ha/ano podem ser atingidas (OLIVEIRA et al., 2001c). A produtividade média brasileira, no ano safra 2009/2010 foi estimada em 78 ton/ha, indicando redução de 4,9% em relação ao ano anterior (CONAB, 2011).

O uso da cana-de-açúcar como volumoso vem se destacando na alimentação de bovinos por apresentar baixo risco na sua utilização, baixo custo por unidade de matéria seca (MS) produzida, elevada produtividade por unidade de área, manutenção do valor nutritivo e disponibilidade nos períodos de escassez de forragens nas pastagens e melhor desempenho econômico em comparação a outras forrageiras, dependendo da categoria animal (DEMARCCCHI, 2001; OLIVEIRA et al., 2005).

O valor nutricional da cana-de-açúcar está relacionado ao teor de sacarose, que pode chegar a 50% da MS, e proporcionar valores de nutrientes digestíveis totais (NDT) ao redor de 55 a 60%. Entretanto, apresenta baixo teor de proteína, alto teor de carboidratos solúveis, pequeno aporte pós-ruminal de aminoácidos e de glicose, aumento na quantidade de protozoários no rúmen e o desbalanço mineral (PRESTON; LENG, 1978; PRESTON, 1982). A qualidade da cana-de-açúcar é afetada principalmente pela idade e variedade da planta. A redução do CMS é ocasionada principalmente pela baixa digestibilidade da fibra, uma vez que

seu teor médio de FDN (47%) é menor que o da silagem de milho (60%) (VALADARES FILHO et al., 2002). A melhor opção para se elevar o CMS em dietas com cana-de-açúcar é a redução da sua participação na dieta, com o aumento da participação de concentrado (COSTA et al., 2005). Uma proporção volumoso:concentrado próxima a 40:60 / 45:55, base na MS, garante produções de 20 a 24 Kg de leite por dia, sem ocorrer perda de peso dos animais. O uso da cana-de-açúcar como volumoso para vacas leiteiras é uma boa alternativa para estágios de lactação em que a exigência nutricional é mais baixa (CORREA et al., 2003).

Existem diferentes formas de se utilizar a cana-de-açúcar na alimentação de ruminantes, destacando-se o uso na forma *in natura*, na qual a cana-de-açúcar é enriquecida com fontes de nitrogênio não protéico (NNP), sulfato de amônio e amido, ou na forma ensilada e a hidrolisada (EZEQUIEL et al., 2005; AQUINO et al., 2008; PEDROSO et al., 2010; GOMEZ-VAZQUEZ et al., 2011). A cana-de-açúcar deve ser picada em fragmentos entre 0,5 a 1,0 cm para favorecer o consumo de matéria seca (VILELA et al., 2007).

### **3.2 Metabolismo do nitrogênio ruminal**

Nas propriedades leiteiras, a alimentação é o principal componente do custo de produção, sendo a proteína um dos principais nutrientes que podem onerar o custo (IMAZUMI et al., 2010).

A digestão dos alimentos nos ruminantes é um processo complexo, envolvendo microrganismos ruminais, além de processos físicos e químicos no rúmen, abomaso e intestino. A proteína dietética é degradada pela ação de enzimas proteolíticas dos microrganismos ruminais em aminoácidos e amônia, utilizados para síntese de proteína microbiana, enquanto os carboidratos são fermentados em ácidos graxos voláteis (AGV) usados na produção de energia. Bactérias e protozoários apresentam atividade proteolítica, entretanto, as bactérias tem se mostrado mais eficientes neste processo (COTTA; HESPELL, 1986).

Aproximadamente 90% da matéria orgânica digerível consumida pelos ruminantes é fermentada no rúmen-retículo. Os principais produtos desta fermentação são os ácidos graxos voláteis (acético, propiônico e butírico), absorvidos pelo epitélio ruminal; os gases metano e

dióxido de carbono, eliminados via eructação; e as células microbianas, que após a digestão no intestino delgado liberam aminoácidos e ácidos graxos (HUNGATE, 1966).

A estrutura da proteína determina a susceptibilidade às proteases microbianas e sua degradabilidade, com papel fundamental no metabolismo ruminal (BACH et al., 2000). As proteínas são compostas por aminoácidos (AA) e unidos por ligações peptídicas. Na natureza são encontrados aproximadamente 300 AA distintos, mas apenas 20 deles estão presentes nas proteínas de microorganismos, plantas e animais. Todos os aminoácidos apresentam um grupamento carboxílico (COOH) e um grupamento amino ( $\text{NH}_3^+$ ), funcionais e ligados ao átomo de carbono (SANTOS, 2006). Do ponto de vista nutricional, os AA podem ser classificados em essenciais (AAE – que não são sintetizados pelo organismo ou são sintetizados em quantidades insuficientes para suprir sua exigência) e não essenciais (AANE).

A degradação ruminal dos nutrientes dos alimentos é influenciada pelas características da dieta, como o teor de energia e proteína, pela ingestão de alimentos, pelo tempo de permanência dos alimentos no rúmen e sua exposição aos microorganismos ruminais, assim como pelas condições do ambiente ruminal, tais como o pH e a concentração de  $\text{NH}_3$  (ØRSKOV; MILLER, 1988; CLARK et al., 1992). As fontes nitrogenadas podem ser divididas em proteína degradável no rúmen (PDR) e proteína não degradável no rúmen (PNDR). O fracionamento da PDR origina amônia, que é incorporada à proteína microbiana, enquanto a PNDR passa intacta pelo rúmen para ser absorvida no intestino (NRC, 2001; SANTOS, 2006).

O NRC divide a degradação ruminal *in situ* da proteína bruta (PB) em frações A, B e C (NRC, 1996, 2001). Neste modelo, a fração A é representada pelo NNP e por uma pequena porção da proteína verdadeira de alta solubilidade com 100% de degradação ruminal no tempo zero de incubação; a fração C é aquela que não é degradada no rúmen, passando totalmente para o intestino; e a fração B é aquela obtida pela diferença  $[100 - (A + C)]$ , sendo potencialmente degradada no rúmen (NRC, 2001). O modelo proposto pela Universidade de Cornell (CNCPS) adotou cinco frações para a degradação de proteína bruta (A, B1, B2, B3 e C). A fração A tem solubilização instantânea e sua taxa de degradação tende ao infinito; a fração C tem a PB ligada ao FDA e não é degradada no rúmen; a fração B é tida como potencialmente degradável e é dividida em três frações de acordo com a sua taxa de degradação ruminal (SNIFFEN et al., 1992).

A eficiência de síntese de proteína microbiana é definida como a quantidade de matéria microbiana (expressa em MS, proteína ou N microbiano) por unidade de substrato energético fermentado ou energia produzida (BROUDISCOU; JOUANY, 1995) e depende da disponibilidade de energia, proteína e da eficiência dos microrganismos para a síntese (SNIFFEN; ROBINSON, 1987).

A recomendação mínima de N-amoniaco no rúmen é de 2 a 5 mg/dL (SATTER; SLYTER, 1974) para favorecer o crescimento bacteriano no rúmen. Entretanto, concentrações de PDR inferiores a 10,5% da MS podem afetar negativamente a fermentação ruminal, a disponibilidade de energia e a proteína metabolizável (NRC, 2001), comprometendo o desempenho animal. Todos os alimentos utilizados na nutrição animal apresentam determinada quantidade de PDR, que devem ser computados durante a formulação das dietas (HUBER; KUNG JR, 1981).

A síntese de proteína microbiana deve ser maximizada em todo programa nutricional de ruminantes por representar aproximadamente 50% da proteína metabolizável que chega ao intestino de vacas de alta produção, 60% em bovinos de corte confinados e mais de 65% em bovinos mantidos exclusivamente em pastagens (SANTOS, 2006). Além disso, o perfil aminoacídico e a digestibilidade intestinal da proteína microbiana são superiores em relação às proteínas vegetais (CLARK et al., 1992) e muito semelhante ao perfil da proteína do leite e do tecido muscular (SANTOS, 2006). Quando o teor de PDR é limitante para o crescimento microbiano, estima-se que 85% da PDR seja convertida em proteína microbiana, dos quais 64% é metabolizável pelo animal, com 67% de eficiência (NRC, 2001). O ruminante não necessita de PB, NNP, PDR ou PNDR para atender sua exigência metabólica, mas sim de quantidades suficientes destes nutrientes para fornecer substrato para a síntese de proteína microbiana, que compõem a proteína metabolizável (SANTOS, 2006).

O ponto chave na formulação de dietas para bovinos leiteiros é o fornecimento de teores reduzidos de PDR, que satisfaçam as exigências dos microrganismos ruminais para a máxima síntese de proteína microbiana, além da complementação da proteína metabolizável com a PNDR (KALSCHEUR et al., 1999; KALSCHEUR et al., 2006). A maximização da produção de proteína microbiana com teores adequados de PDR, pode permitir redução do teor da PB da dieta sem reduzir a produção de leite, além de diminuir a excreção de N para o ambiente, melhorar a eficiência do nitrogênio alimentar, reduzir os custos de produção, e

maximizar o desempenho animal (REYNAL; BRODERICK, 2005; KALSCHEUR et al., 2006).

O *pool* de proteínas potencialmente fermentáveis no rúmen origina-se da proteína dos alimentos, da proteína endógena encontrada na saliva, das células de descamação epitelial e dos microrganismos lisados. A síntese de proteína microbiana no rúmen, a PNDR e a proteína endógena contribuem para o aporte intestinal de aminoácidos para o intestino delgado, onde a proteína microbiana é responsável pelo maior fluxo de AA (CLARK et al., 1992).

Em razão da complexidade do ambiente ruminal, vários fatores podem afetar a síntese de proteína microbiana (DEWHURST et al., 2000), dos quais a quantidade de nitrogênio e energia das rações são considerados fatores principais da limitação (CLARK et al., 1992). A quantidade de enxofre, ácidos graxos voláteis, ácidos graxos de cadeia ramificada, minerais e vitaminas, também são importantes para o crescimento microbiano, embora com menor importância. O pH ruminal e a taxa de renovação das frações líquida e sólida do rúmen, estão relacionados à bioquímica e a dinâmica ruminal do meio.

O fluxo de nitrogênio (N) microbiano para o duodeno pode ser estimado a partir da excreção urinária dos derivados de purina (principalmente alantoína e ácido úrico), sendo a quantidade de ácido nucléico microbiano e a síntese microbiana ruminal correlacionadas à excreção urinária dos derivados de purina (MOSCARDINI et al., 1998). A utilização dos derivados de purina urinários para detecção de alterações na síntese microbiana ruminal foi observada com a mesma eficiência do método baseado na medição do fluxo duodenal pela técnica de indicadores (GONZÁLEZ-RONQUILLO et al., 2003). Uma única amostra *spot* de urina de cada vaca em cada período experimental, utilizada para quantificação do volume urinário com base na excreção de creatinina, produziu aproximadamente a mesma estimativa da excreção urinária de derivados de purina e, conseqüentemente, da produção de N microbiano, quando comparada à coleta total de urina (VALADARES et al., 1999b).

A alta concentração de PB na dieta, em especial a porcentagem de PDR está positivamente associada com a maior degradação de proteína e concentração de amônia ruminal (BRODERICK, 2003; HRISTOV et al., 2004). O excesso de PDR aumenta a difusão de amônia pela parede do rúmen para o sangue, o que causa elevação do teor do nitrogênio ureico no plasma (NUP) (BUTLER et al., 1996), que é indicativo da ineficiência na utilização do nitrogênio dietético (NOUSIAINEN et al., 2004) para produção de leite.

O excesso de nitrogênio sanguíneo é convertido em uréia no fígado, sendo a principal forma de excreção de nitrogênio em mamíferos. A medição rotineira do NUP é difícil e inviável em sistemas de produção, todavia, a concentração de uréia equilibra-se rapidamente nos fluidos corporais, incluindo o leite (NUL), o que resulta em alta correlação com o NUP (GUSTAFSSON; PALMQUIST, 1993) e por isso o NUL é considerado um bom indicador do balanço nitrogenado da dieta (BRODERICK; CLAYTON, 1997). O excesso de nitrogênio sanguíneo também é excretado na urina e nas fezes (MUCK, 1982; BRODERICK, 2003).

Uma vaca com produção de 8000 Kg de leite/lactação excretará aproximadamente 20 toneladas de estrume e aproximadamente 120 Kg de N para o ambiente (VAN HORN et al., 1996). Aproximadamente 25 a 35% do N ingerido é excretado no leite, e 0,65 a 0,75% são excretados via urina e fezes, o que resulta em alta correlação entre a ingestão de nitrogênio e sua excreção nas fezes (CHASE, 1994; YAN et al., 2006). O N excretado é rapidamente hidrolisado em  $\text{NH}_3$  e perdido por volatilização para o ambiente (MUCK, 1982; VANHORN et al., 1994). O excesso de N pode afetar o desempenho reprodutivo, aumentar a demanda energética em 13,3Kcal de energia digestível por grama de N a ser excretado na forma de uréia, além da contaminação ambiental com N (BRODERICK; CLAYTON, 1997). A concentração de NUL é fácil determinação e pode ser usada para monitorar a nutrição protéica de vacas leiteiras (SCHEPERS; MEIJER, 1998).

A maximização da quantidade de proteína metabolizável que chega ao intestino para absorção é obtida com a estimulação da síntese de proteína microbiana. A combinação de nutrientes que favoreçam a síntese de proteína microbiana leva a redução do teor de PB da dieta, da excreção de compostos nitrogenados para o ambiente, dos custos de produção, sem afetar o desempenho animal.

Vacas alimentadas com dietas a base de alfafa, silagem de milho, milho de alta umidade e farelo de soja com três teores de PB na MS (15,1; 16,7; 18,4%) apresentaram redução da produção de leite corrigida ou não para gordura, da produção de gordura e proteína para a ração com menor teor protéico. As vacas alimentadas com ração contendo 16,7% de PB apresentaram produção de leite, gordura e proteína semelhantes, com menor excreção urinária de nitrogênio e maior eficiência do uso do nitrogênio que as vacas alimentadas com 18,4% de PB na ração (BRODERICK, 2003).

Vacas no início da lactação alimentadas com cana-de-açúcar e 7% de caroço de algodão mantiveram a concentração de N-amoniaco acima de 15 mg/dL 6 horas após a



alimentação. Estes animais apresentaram maior quantidade de purinas totais, purinas absorvidas e produção de proteína microbiana semelhante à obtida com silagem de milho e melhor balanço de compostos nitrogenados em relação ao tratamento com cana-de-açúcar zero e 7% de caroço de algodão (SOUSA et al., 2009).

Estudando o efeito de diferentes fontes nitrogenadas (farelo de soja; farelo de algodão 38%PB; farelo de algodão 28%PB e farelo de soja + 5% de uréia e sulfato de amônia na MS do concentrado) e silagem de milho sobre a síntese e a eficiência de síntese de proteína microbiana, a concentração de nitrogênio uréico no soro e no leite, concentração de nitrogênio amoniacal no rúmen de

O uso do farelo de soja, farelo de algodão 38%PB, farelo de algodão 28%PB e da combinação de farelo de soja com 5% de uréia e sulfato de amônia (MS do concentrado) com silagem de milho para vacas Holandesas, não causaram alteração sobre a concentração de compostos nitrogenados não protéicos no leite e no soro e para a eficiência de síntese de PB microbiana (PINA et al., 2006).

### **3.3 O uso do nitrogênio não protéico para vacas leiteiras**

Vários estudos sobre o uso de diferentes fontes nitrogenadas para vacas leiteiras foram realizados nos últimos anos com o objetivo de maximizar a eficiência de utilização do nitrogênio da dieta, melhorar o desempenho animal e reduzir as perdas de N para o ambiente (SANTOS et al., 1998). Todo nitrogênio que não se apresenta na forma polipeptídica é definido como nitrogênio não protéico (NNP) (HALIBURTON; MORGAN, 1989). A uréia, fonte mais comum de NNP, é o ingrediente comumente utilizado para a correção dos teores de PDR em rações para ruminantes. A obtenção da uréia por ruminantes pode ser por duas vias: a reciclagem endógena ou por via exógena.

A uréia exógena é um composto quaternário, composta por nitrogênio, oxigênio, carbono e hidrogênio, de fórmula  $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$  (NELSON; COX, 2000), com 45% de nitrogênio (N) e equivalente protéico de aproximadamente 281% PB. É obtida sinteticamente pela combinação de gás carbônico e amônia em condições de elevada temperatura e pressão. A combinação de uréia e sulfato de amônio em rações com cana-de-açúcar é prática comum em

sistemas de alimentação de ruminantes. Esta combinação eleva o teor de enxofre, escasso neste volumoso, que é usado para a síntese de aminoácidos sulfurados (WALLI; MUDGAL, 1981). Por ser altamente degradável no rúmen, a uréia quando ingerida em grandes quantidades pode ocasionar intoxicação pelo excesso de amônia ruminal (SANTOS, 2006).

A PB da dieta, especialmente PDR sofre ação da urease bacteriana e produz moléculas de amônia na forma ionizada ( $\text{NH}_4^+$ ) e não ionizada ( $\text{NH}_3$ ). Somente a amônia na forma não ionizada é absorvida pelo epitélio ruminal. As moléculas de amônia que não são utilizadas para a síntese de proteína microbiana seguem pela veia porta até o fígado, onde são convertidas em uréia (SANTOS, 2006). No fígado, os íons amônio e dióxido de carbono interagem com ATP e formam carbamoil fosfato nas mitocôndrias. O grupo carbamoil é transferido do carbamoil fosfato para a ornitina e formam citrulina. A citrulina formada nas mitocôndrias é transferida para o citosol para se converter em arginossuccinato, que é clivado em fumarato e arginina. Na última etapa do ciclo da uréia a arginina é clivada pela arginase em uréia e ornitina (SWENSON; REECE, 2006). No fígado a amônia é convertida em uréia e posteriormente excretada na urina ou é reciclada via saliva ou por difusão no epitélio ruminal (VAN SOEST, 1994). Rações com alta concentração de nitrogênio na dieta, especialmente PDR, resultam em excesso de amônia ruminal, o que gera o gasto de dois mols de ATP de energia para a síntese de um mol de uréia (SANTOS, 2006) ou 7,2 Kcal de energia metabolizável por grama de N excretado (NRC, 1989), que a eficiência energética da dieta.

A última versão do NRC para bovinos de corte (NRC, 1996) recomenda 130g de PDR por Kg de nutrientes digestíveis totais (NDT). Novilhos confinados necessitam quantidades de PDR superiores a 100g por Kg de matéria orgânica (MO) digestível (ZINN; SHEN, 1998). A versão mais recente do NRC para bovinos leiteiros (NRC, 2001) adotou uma exigência de PDR igual a 1,18 vezes a quantidade de proteína microbiana sintetizada no rúmen, calculada como 13% dos nutrientes digestíveis totais (NDT ajustado para o consumo).

A fim de se estudar o efeito da inclusão uréia na ração de vacas de alta produção em substituição parcial ou total a fontes de proteína verdadeira, vinte e três comparações, a partir de doze trabalhos foram revisados (SANTOS et al., 1998), nos quais a inclusão de uréia variou de 0,4 a 1,8% da matéria seca (MS). O consumo de MS não foi afetado em 17 comparações, diminuiu em quatro e aumentou em duas comparações. Em 20 comparações a produção de leite não foi alterada e diminuiu em três. O teor de proteína bruta do leite não foi alterado em 17 comparações e aumentou em cinco. Neste levantamento, as vacas que

receberam somente a fonte de proteína verdadeira apresentaram produção média de 33,3 Kg/dia e as vacas que receberam uréia a produção média foi de 32,7 Kg/dia, indicando a viabilidade do uso da uréia mesmo em rebanhos de alta produtividade.

No Brasil, a suplementação de bovinos com cana-de-açúcar corrigida com a mistura uréia e sulfato de amônio, principalmente nos períodos de menor oferta de pastagens, é prática comum. Para cada 100 Kg de cana-de-açúcar triturada (base na matéria orgânica), são adicionados 0,9 Kg de uréia e 0,1 Kg de sulfato de amônio, que favorecem consumo de 300 a 450 g/dia de uréia sem provocar intoxicações em animais adaptados.

A redução do teor de PDR (13,2; 12,3; 11,7; 10,6% MS) e da PB (18,8 e 17,2% MS) na ração, não apresentou efeito sobre a produção de leite corrigida para gordura (REYNAL; BRODERICK, 2005). Os mesmos autores concluíram as vacas alimentadas com 12,3% de PDR apresentaram maior produção e teor de proteína verdadeira no leite em relação àquelas que alimentadas com 11,3% de PDR, além da menor eficiência do uso do N sobre a produção de leite (94,3 vs 87,2 Kg de leite/Kg N excretado).

Não houve diferença para a produção de leite corrigida ou não para 3,5% de gordura e para a composição centesimal do leite de vacas Holandesas puras ou mestiças alimentadas com dois teores de uréia e sulfato de amônio (0,35 e 1,0% MS da ração) e duas proporções da relação volumoso:concentrado (64:40 e 50:50) em dietas com cana-de-açúcar (MENDONÇA et al., 2004).

A inclusão de uréia na ração (zero, 0,75 e 1,0% na MS) de vacas de vacas lactantes recebendo cana-de-açúcar como volumoso, não apresentou efeito significativo sobre o consumo de MS, produção de leite corrigida ou não para 3,5% de gordura e composição do leite (AQUINO et al., 2007).

### **3.4 Alimentação de vacas leiteiras com proteína não degradável no rúmen**

Somente a uréia ruminal, oriunda da reciclagem e de fonte exógena, suporta produção de até 4500 Kg de leite por lactação (VIRTANEN, 1966). Entretanto, com o constante incremento da genética animal, somente a proteína microbiana não é capaz de suprir a demanda de manutenção e produção destes animais, necessitando a suplementação com fontes

de PNDR para complementar a proteína microbiana (SANTOS et al., 1998). A lisina e a metionina são considerados os aminoácidos essenciais que causam a limitação da produção de leite (SCHWAB, 1996).

Segundo o NRC (2001), vacas na fase intermediária da lactação, recebendo ração com 16% de PB e quantidades adequadas de PDR e PNDR, não apresentam resposta a suplementação extra de proteína.

A variação do teor de PB e de PNDR da ração reduziu a taxa de prenhes em 29% para as vacas alimentadas com alto teor de PB, mas sem influência na produção de leite e condição corporal. Entretanto, o grupo pós-parto alimentado com a ração contendo alta PNDR apresentou maior PLC 3,5%G no início da lactação (MCCORMICK et al., 1999).

Entre os anos de 1985 a 1997, Santos et al. (1998) revisaram 108 trabalhos publicados sobre fontes nitrogenadas para vacas lactantes. Em 15 ensaios (29 comparações), a suplementação com fontes ricas em PNDR em substituição ao farelo de soja em vacas canuladas no rúmen e duodeno não apresentou benefícios sobre o fluxo de proteínas e aminoácidos duodenais, houve redução para a síntese de proteína microbiana em 76% das comparações e maior fluxo de proteína de origem dietética para o intestino. A substituição do farelo de soja por fontes ricas em PNDR resultou no aumento da produção de leite em apenas 17% de 88 ensaios.

A suplementação de vacas lactantes com uréia, farelo de algodão, de canola e de soja, apresentou maior fluxo de PNDR e proteína total no rúmen para os animais suplementados com farelo de algodão, enquanto a produção de gordura e de proteína no leite foi maior para o farelo de canola (BRITO et al., 2006; BRITO; BRODERICK, 2007).

### **3.5 Sincronização de proteína e energia**

A síntese de proteína microbiana e o crescimento microbiano são conseguidos com a disponibilidade de nitrogênio e energia para as bactérias ruminais (HERRERA-SALDANA et al., 1990). Os danos causados pelo excesso de nitrogênio na dieta de ruminantes pode ser reduzido por maior captura do N pelos microorganismos ruminais e conversão em proteína microbiana (ARIELI et al., 1996). Além da sincronização da degradação da fonte nitrogenada

com os carboidratos da dieta, um ambiente ruminal saudável (SNIFFEN; ROBINSON, 1987) e bom manejo alimentar favorecem o crescimento bacteriano (ROBINSON et al., 1990).

A sincronização entre energia e proteína degradável foi benéfica para o crescimento microbiano, para a digestibilidade ruminal, eficiência de utilização de energia e proteína e na produção de leite (HERRERA-SALDANA et al., 1990).

Em revisão de vários estudos publicados sobre o efeito da degradabilidade de carboidratos em relação à degradabilidade de proteína dietética (HOOVER; STOKES, 1991), os autores sugeriram que o sincronismo foi importante para o desempenho produtivo de ruminantes. Entretanto, em revisão atual sobre a sincronização da disponibilidade de PDR e energia ruminal (HALL; HUNTINGTON, 2008), os autores não observaram benefícios da sincronização sobre o desempenho de vacas lactantes.

### **3.6 Parâmetros metabólicos sanguíneos**

O estudo do perfil bioquímico do sangue é de longa data, principalmente vinculada à patologia clínica. Na década de setenta, a análise de componentes sanguíneos foi usada inicialmente em rebanhos leiteiros com aplicações ligadas ao manejo alimentar.

O perfil metabólico sanguíneo pode ser utilizado como indicador da saúde da vaca leiteira para o aprimoramento nutricional, correção de desequilíbrios e intensificação da produtividade (CALIXTO et al., 2010). Todavia, a idade, a fase de lactação, a produtividade individual, a raça, o clima, o estado fisiológico e a dieta também refletem mudanças no padrão do perfil metabólico de vacas em produção (FREITAS JÚNIOR et al., 2010).

O perfil metabólico dos componentes bioquímicos do sangue é representativo das principais vias metabólicas do organismo, da qual a glicose, o colesterol e o beta-hidroxibutirato representam o metabolismo energético e a uréia, a hemoglobulina, as globulinas, a albumina e as proteínas totais representam o metabolismo protéico (DIRKSEN; BREITNER, 1993), enquanto o cálcio, o fósforo inorgânico, o magnésio, o sódio e o potássio representam os macrominerais (WITTWER; CONTRERAS, 1980).

O metabolismo ruminal, a absorção intestinal de nutrientes, o transporte, a secreção e a deposição de gordura no organismo estão intimamente relacionadas ao metabolismo lipídico e

podem influenciar os componentes bioquímicos do sangue (CHRISTENSEN et al., 1994). As lipoproteínas HDL, LDL e VLDL transportam o colesterol no plasma e mais de 60% do colesterol apresenta-se na forma esterificada com ácidos graxos (GONZÁLEZ; SCHEFFER, 2003). A suplementação de gorduras em vacas no terço médio de lactação não influenciou a concentração sanguínea de triglicerídeos e colesterol total (DRACKLEY et al., 1992).

A determinação da concentração de nitrogênio e uréia circulante é importante para avaliação do balanço nitrogenado da dieta fornecida por refletir o metabolismo ruminal de proteínas. Portanto, a concentração de uréia sanguínea pode ser utilizada como indicador sensível e imediato do metabolismo protéico (PERES, 2001) por estar presente nos fluidos corporais, principalmente no sangue e no leite. A concentração de uréia no leite não está ligada a regulação de mecanismos homeostáticos e por isso é menos afetada por variações pós-prandiais, sendo considerado um indicador mais preciso que a uréia no sangue para avaliação do metabolismo de nitrogênio ruminal (CAMPOS, 2002).

Vacas lactantes alimentadas com cana-de-açúcar e amiréia apresentaram concentração de uréia plasmática (NUP) de 15 a 40 mg/dL, porém, não houve alteração das concentrações plasmáticas de glicose, uréia e nitrogênio ureico (VILELA et al., 2007)

O aumento do teor de PB da dieta 10,05 para 13,70% da MS com a inclusão de uréia ou farelo de soja resultou em aumento da uréia plasmática, do N-amoniaco e AGV totais, e redução do acetato ruminal de vacas lactantes (IMAIZUMI et al., 2002).

A concentração de NUL e NUP em vacas lactantes não foi influenciada pela variação do teor de proteína metabolizável e PDR em dietas com cana-de-açúcar corrigida com 1% de uréia e sulfato de amônio (VOLTOLINI et al., 2008).

### **3.7 Composição nitrogenada do leite**

O leite é composto por frações lipídica, protéica e mineral, dispersa em meio aquoso, onde a composição centesimal constitui critério de qualidade (BRITO et al., 1997). Dos componentes do leite, a proteína e em especial, a proteína verdadeira do leite é a que apresenta maior importância para a indústria láctea (COULON et al., 1998; EMMONS et al., 2003), pois determina o rendimento dos derivados lácteos (BARBANO; LYNCH, 2006). Em

países como França, Canadá, Nova Zelândia, Austrália e Estados Unidos, os teores de gordura e de proteína verdadeira são utilizados como critério para o pagamento do leite aos produtores (INTERNATIONAL DAIRY, 2006).

A fração nitrogenada do leite do leite é composta por caseína, proteínas do soro e compostos nitrogenados não protéicos (FARRELL et al., 2004). A caseína e a proteína do soro compõem a proteína verdadeira do leite (DEPETERS; CANT, 1992). A primeira é composta por quatro grupos principais ( $\alpha$ -s1,  $\alpha$ -s2,  $\beta$  e k-caseína), que representam aproximadamente 80% das proteínas totais do leite e são sintetizadas pela glândula mamária (SWAISGOOD, 1993). A proteína do soro é composta por  $\beta$ -lactoalbumina e a  $\alpha$ -lactoalbumina, sintetizadas pela glândula mamária e albumina sérica e imunoglobulinas, de origem sangüínea (WALSTRA; JANNES, 1984). A uréia, a creatina e a creatinina são os principais componentes do NNP do leite, e representam aproximadamente 5% da fração nitrogenada ou 50 a 60 g/Kg de N total do leite, dos quais a uréia compõe aproximadamente 50% da fração (DEPETERS; CANT, 1992).

Os teores de proteína bruta, proteína verdadeira e concentração de NNP foram influenciadas pela raça, a proteína total, a proteína verdadeira e o nitrogênio total pelo mês de coleta, enquanto os sistemas de alimentação dos rebanhos comerciais não influenciaram a fração nitrogenada do leite (BOTARO et al., 2011). Dietas contendo 16% ou menos de PB na MS produziram quantidade de proteína metabolizável insuficiente para a máxima síntese de leite, enquanto dietas com 17% de PB ou mais, não favoreceram a produção de leite (OLMOS COLMENERO; BRODERICK, 2006).

Diversos estudos têm sido realizados para avaliar os efeitos da combinação da cana-de-açúcar com fontes nitrogenadas sobre o desempenho produtivo, produção e composição de leite de vacas em lactação (OLIVEIRA et al., 2001a; MENDONÇA et al., 2004; AQUINO et al., 2008; SOUSA et al., 2009). Entretanto, poucos estudos foram realizados para avaliar o efeito de fontes nitrogenadas e do teor protéico da dieta sobre a fração nitrogenada do leite (AQUINO et al., 2008; PATTON, 2010).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Local, Instalações e Animais

O experimento foi realizado no setor de Bovinocultura de Leite, da Prefeitura do Campus Administrativo de Pirassununga (PCAPS), da Universidade de São Paulo, no período de 09 de junho a primeiro de setembro de 2010. Foram utilizadas 12 vacas Holandesas com médias de peso vivo de 611 Kg, 235 dias em lactação e 22 Kg/vaca/dia no início do experimento, alojadas em sistema tipo *free stall*. Os animais foram agrupados em três quadrados latinos contemporâneos 4x4 balanceados de acordo com os dias em lactação, com quatro períodos experimentais de 21 dias cada, sendo 14 dias para adaptação às rações e os demais para coleta de amostras.

### 4.2 Rações Experimentais e Análise de Alimentos

Os tratamentos eram compostos por duas fontes nitrogenadas principais (uréia e farelo de soja) e dois teores de PB (14,5 e 16% da MS): A) 14,21% de PB e farelo de soja (FS) como fonte nitrogenada principal, com 65% de PDR; B) 15,57% PB FS e 65% PDR; C) 14,23% PB e Ureia (U) como fonte nitrogenada, com 70% de PDR; D) 15,62% PB U e 70% PDR. Como volumoso foi utilizado a cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*), na proporção volumoso:concentrado 45:65 (base na MS). A ração e água foram fornecidos *ad libitum*. A ingestão de MS foi estimada a partir do percentual de sobras do dia anterior, de forma a permitir sobras de 5 a 10%.

Foram formuladas quatro rações isoenergéticas (1,29 Mcal/Kg de MS), de forma a atender as exigências nutricionais de acordo com o NRC (2001). A composição centesimal da PDR na PB para os tratamentos com 14,5% de PB com farelo de soja e uréia foram 9,5 e 10,3%, respectivamente, enquanto os tratamentos com 16% de PB apresentaram 10,4 e 11,3%.

Em cada período experimental foram coletadas amostras de cana-de-açúcar, dos



ingredientes do concentrado e das sobras das rações fornecidas, armazenadas a -20°C até a realização das análises bromatológicas no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Nutrição e Produção Animal, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP (VNP – FMVZ/USP).

A cana-de-açúcar foi colhida manualmente no dia anterior à sua utilização, armazenada no próprio canavial até a picagem no dia seguinte por picadeira/ensiladeira marca Pinheiro, modelo 3610, em fragmentos de 0,5 a 1,0 cm.

A proporção dos ingredientes no concentrado e dieta total, assim como a composição bromatológica das rações, concentrados e ingredientes encontram-se nas tabelas 1, 2, 3, 4 e 5.

Tabela 1 - Proporção dos ingredientes do concentrado, expressa na matéria seca (%MS)

Ingredientes	Concentrados <sup>1</sup>			
	Farelo de Soja		Uréia	
	14,5	16,0	14,5	16,0
Milho moído	48,76	42,25	57,62	50,06
Farelo de soja	19,99	27,54	9,98	14,54
Grão de soja	22,92	21,87	22,40	25,44
Ureia	0,40	0,40	1,82	1,82
Sulfato de amônia	0,00	0,00	0,20	0,20
Bicarbonato de sódio	1,36	1,37	1,42	1,36
Óxido de magnésio	0,45	0,46	0,45	0,45
Calcário	5,46	5,46	5,45	5,46
Suplemento Mineral <sup>2</sup>	0,20	0,20	0,20	0,20
Sal comum	0,45	0,46	0,45	0,45

<sup>1</sup>Dietas isoenergéticas (1,29Mcal/Kg de MS) sendo: A) 14,21% de PB e farelo de soja (FS) como fonte nitrogenada, com 65% de PDR, B) 15,57% PB FS e 65% PDR, C) 14,23% PB e Ureia (U) como fonte nitrogenada, com 70% de PDR, D) 15,62% PB U e 70% PDR. <sup>2</sup>Composição por quilograma de produto: cálcio-190g, fósforo-73g, enxofre-30g, magnésio-44g, cobre-340mg, zinco-1350mg, manganês-940mg, cobalto-3mg, iodo-16mg, selênio-10mg, ferro-1064mg, vitamina A-100.000 UI, vitamina D-40.000 UI, vitamina E-600 UI.

Tabela 2 – Composição percentual dos ingredientes nas dietas, expressa na matéria seca (%MS)

Ingredientes	Dietas <sup>1</sup>			
	Farelo de Soja		Uréia	
	14,5	16,0	14,5	16,0
Milho Fubá	26,81	23,2	31,69	27,51
Soja Farelo 48% PB	10,99	15,12	5,49	7,99
Soja Grão Integral <i>in natura</i>	12,6	12,01	12,32	13,98
Ureia	0,22	0,22	1,00	1,00
Sulfato de Amônia	-	-	0,11	0,11
Bicarbonato de Na	0,75	0,75	0,78	0,75
Óxido de Magnésio	0,25	0,25	0,25	0,25
Suplemento mineral <sup>2</sup>	3,00	3,00	3,00	3,00
Calcário	0,11	0,11	0,11	0,11
Sal comum	0,25	0,25	0,25	0,25
Cana-de-açúcar	45,02	45,08	44,99	45,06

<sup>1</sup>Dietas isoenergéticas (1,29Mcal/Kg de MS) sendo: A) 14,21% de PB e farelo de soja (FS) como fonte nitrogenada, com 65% de PDR, B) 15,57% PB FS e 65% PDR, C) 14,23% PB e Uréia (U) como fonte nitrogenada, com 70% de PDR, D) 15,62% PB U e 70% PDR. <sup>2</sup>Composição por quilograma de produto: cálcio-190g, fósforo-73g, enxofre-30g, magnésio-44g, cobre-340mg, zinco-1350mg, manganês-940mg, cobalto-3mg, iodo-16mg, selênio-10mg, ferro-1064mg, vitamina A-100.000 UI, vitamina D-40.000 UI, vitamina E-600 UI.

Tabela 3 – Composição bromatológica dos ingredientes das dietas

Composição Química	Cana-de-açúcar	FS <sup>6</sup>	GS <sup>7</sup>	Milho
Matéria Seca (MS) <sup>1</sup>	26,70	88,94	91,80	88,30
Matéria Orgânica (MO) <sup>2</sup>	96,80	93,90	94,70	98,80
Matéria Mineral (MM) <sup>2</sup>	3,20	6,10	5,30	1,70
Proteína Bruta (PB) <sup>2</sup>	1,90	46,70	39,70	9,80
Nitrogênio Insolúvel em Detergente Neutro (NIDN) <sup>3</sup>	23,90	3,42	16,05	23,02
Nitrogênio Insolúvel em Detergente Ácido (NIDA) <sup>3</sup>	1,79	3,42	16,05	23,02
Extrato Etéreo (EE) <sup>2</sup>	0,78	1,74	20,21	3,40
Carboidratos Totais (CHOT) <sup>2</sup>	94,12	45,46	34,79	85,10
Fibra em Detergente Neutro (FDN) <sup>2</sup>	57,99	11,59	12,64	7,53
Carboidratos Não Fibrosos (CNF) <sup>2</sup>	36,14	33,87	22,15	77,57
Fibra em Detergente Ácido (FDA) <sup>2</sup>	33,08	8,99	15,45	4,18
FDA indigestível (FDAi) <sup>2</sup>	12,41	1,80	2,08	1,55
Lignina <sup>2</sup>	7,07	3,98	7,80	1,11
Nutrientes Digestíveis Totais (NDT) <sup>4</sup>	65,61	89,08	112,97	95,55
Energia Líquida de Lactação (EL <sub>L</sub> ) <sup>4</sup> (Mcal/Kg)	1,64	2,23	2,82	2,39
Energia Bruta (EB) <sup>5</sup> (cal/g/MS)	4073,70	4695,04	5202,88	4770,36

<sup>1</sup>% da Matéria natural; <sup>2</sup>Valores em porcentagem da matéria seca; <sup>3</sup>Valores em porcentagem do nitrogênio total; <sup>4</sup>Estimado pelas equações do NRC (2001); <sup>5</sup>Obtido em bomba calorimétrica; <sup>6</sup>Farelo de soja; <sup>7</sup>Grão de soja integral *in natura*.

Tabela 4 - Composição bromatológica dos concentrados

Composição química	Concentrados <sup>1</sup>			
	Farelo de Soja		Uréia	
	14,5	16,0	14,5	16,0
Matéria Seca (MS) <sup>2</sup>	90,22	90,35	90,38	90,54
Matéria Orgânica (MO) <sup>3</sup>	87,36	87,42	86,79	86,60
Matéria Mineral (MM) <sup>3</sup>	11,95	12,58	13,21	13,40
Proteína Bruta (PB) <sup>3</sup>	24,28	26,79	24,31	26,88
Nitrogênio Insolúvel em Detergente Neutro (NIDN) <sup>4</sup>	6,66	6,56	6,69	6,98
Nitrogênio Insolúvel em Detergente Ácido (NIDA) <sup>4</sup>	1,30	3,39	1,33	1,28
Extrato Etéreo (EE) <sup>3</sup>	6,60	6,31	6,65	7,03
Carboidratos Totais (CHOT) <sup>3</sup>	55,08	54,31	55,84	52,69
Fibra em Detergente Neutro (FDN) <sup>3</sup>	11,68	12,05	10,93	11,41
Carboidratos Não Fibrosos (CNF) <sup>3</sup>	46,09	42,26	44,90	41,29
Fibra em Detergente Ácido (FDA) <sup>3</sup>	7,35	7,60	6,75	7,31
Lignina <sup>3</sup>	3,11	3,27	2,79	3,12
Nutrientes Digestíveis Totais (NDT) <sup>5</sup>	78,86	77,14	79,37	76,72
Energia Líquida de Lactação (EL <sub>L</sub> ) <sup>5</sup> (Mcal/Kg)	2,06	1,95	2,13	1,98

<sup>1</sup>Dietas isoenergéticas (1,29Mcal/Kg de MS) sendo: A) 14,21% de PB e farelo de soja (FS) como fonte nitrogenada, com 65% de PDR, B) 15,57% PB FS e 65% PDR, C) 14,23% PB e Uréia (U) como fonte nitrogenada, com 70% de PDR, D) 15,62% PB U e 70% PDR. <sup>2</sup>Valor expresso em porcentagem da matéria natural; <sup>3</sup>Valores expressos em porcentagem da matéria seca; <sup>4</sup>Valores expressos em porcentagem do nitrogênio total; <sup>5</sup>Valores estimados pelas equações do NRC (2001).

Tabela 5- Composição bromatológica das dietas

Ingredientes (%)	Dietas <sup>1</sup>			
	Farelo de Soja		Uréia	
	14,5	16,0	14,5	16,0
<i>Porcentagem da MS</i>				
Cana-de-açúcar	45,02	45,08	44,99	45,06
Milho Fubá	26,81	23,2	31,69	27,51
Soja Farelo 48% PB	10,99	15,12	5,49	7,99
Soja Grão Integral <i>in natura</i>	12,6	12,01	12,32	13,98
Ureia	0,22	0,22	1,00	1,00
Sulfato de Amônia	-	-	0,11	0,11
Bicarbonato de Sódio	0,75	0,75	0,78	0,75
Óxido de Magnésio	0,25	0,25	0,25	0,25
Suplemento mineral <sup>2</sup>	3,00	3,00	3,00	3,00
Calcário	0,11	0,11	0,11	0,11
Sal comum	0,25	0,25	0,25	0,25
<i>Composição Química</i>				
Matéria Seca (MS) <sup>3</sup>	61,64	61,66	61,75	61,78
Matéria Orgânica (MO) <sup>4</sup>	91,63	91,66	91,32	91,22
Matéria Mineral (MM) <sup>4</sup>	8,02	8,35	8,71	8,80
Proteína Bruta (PB) <sup>4</sup>	14,21	15,57	14,23	15,62
Nitrogênio Insolúvel em Detergente Neutro (NIDN) <sup>5</sup>	11,39	11,39	11,39	11,39
Nitrogênio Insolúvel em Detergente Ácido (NIDA) <sup>5</sup>	1,52	2,67	1,54	1,51
Extrato Etéreo (EE) <sup>4</sup>	3,98	3,82	4,01	4,21
Carboidratos Totais (CT) <sup>4</sup>	72,71	72,26	73,15	71,38
Fibra em Detergente Neutro (FDN) <sup>4</sup>	32,56	32,76	32,16	32,41
Carboidratos Não Fibrosos (CNF) <sup>4</sup>	41,63	39,50	40,99	38,97
Fibra em Detergente Ácido (FDA) <sup>4</sup>	18,95	19,09	18,63	18,93
Lignina <sup>4</sup>	4,90	4,98	4,72	4,90
Nutrientes Digestíveis Totais (NDT) <sup>6</sup>	72,94	71,94	73,24	71,73
Energia Líquida de Lactação (EL <sub>L</sub> ) <sup>6</sup> (Mcal/Kg)	2,97	2,91	3,01	2,93

<sup>1</sup>Dietas isoenergéticas (1,29Mcal/Kg de MS), sendo: A) 14,21% de PB e farelo de soja (FS) como fonte nitrogenada, com 65% de PDR, B) 15,57% PB FS e 65% PDR, C) 14,23% PB e Ureia (U) como fonte nitrogenada, com 70% de PDR, D) 15,62% PB U e 70% PDR. <sup>2</sup>Composição por quilograma de produto: cálcio-190g, fósforo-73g, enxofre-30g, magnésio-44g, cobre-340mg, zinco-1350mg, manganês-940mg, cobalto-3mg, iodo-16mg, selênio-10mg, ferro-1064mg, vitamina A-100.000 UI, vitamina D-40.000 UI, vitamina E-600 UI; <sup>3</sup>Valor expresso em porcentagem da matéria natural; <sup>4</sup>Valores expressos em porcentagem da matéria seca; <sup>5</sup>Valores expressos em porcentagem do nitrogênio total; <sup>6</sup>Valores estimados pelas equações do NRC (2001).

Nos alimentos fornecidos e nas amostras de sobras foram analisados os teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE), proteína bruta (PB), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) e lignina de acordo com as metodologias descritas por Silva e Queiroz (2002). O teor de proteína bruta (PB) foi obtido pela multiplicação do teor de nitrogênio total por 6,25.

Os carboidratos totais (CT) foram calculados segundo metodologia descrita por Sniffen et al. (1992), em que:  $CT = 100 - (\%PB + \%EE + \%MM)$ . Os teores de carboidratos não-fibrosos (CNF) foram estimados segundo Hall (1998) em que  $CNF = 100 - [(\%PB - \%PB \text{ Ureia} + \% \text{ Ureia}) + \%EE + \%MM + \%FDN]$ . Os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram calculados conforme equações do NRC (2001), em que:  $NDT = CNFd + PBd + (AGd * 2,25) + FDNd - 7$ , em que PBd, CNFd, FDNd e AGd representam o total destes nutrientes digestíveis. Os nutrientes digestíveis totais observados (NDTobs) foram calculados segundo a equação:  $NDTobs = PBd + FDNd + (EEd * 2,25) + CNFd$  (WEISS et al., 1992).

Os teores de fibra detergente neutro (FDN) e fibra detergente ácido (FDA) foram obtidos utilizando-se  $\alpha$ -amilase sem adição de sulfito de sódio na determinação do FDN, em Sistema Ankon® (VANSOEST; MASON, 1991).

### 4.3 Balanço de nitrogênio

Para o cálculo de balanço de nitrogênio foi realizada a determinação da concentração de creatinina na urina (VALADARES et al., 1999b; RENNO et al., 2008) a partir de amostras *spot* de 50 mL de urina, obtidas de todas as vacas no 15º dia de cada período experimental, quatro horas após a alimentação matinal, pela micção estimulada por massagem na vulva. Para as análises de ácido úrico e alantoína, 50 mL de urina foram filtrados e alíquotas de 10 mL foram diluídas imediatamente em 40 mL de ácido sulfúrico a 0,036 N para evitar destruição bacteriana dos derivados de purinas e precipitação do ácido úrico. Para a determinação dos compostos nitrogenados totais, de uréia e creatinina, 40 mL de urina pura de cada vaca por período foram armazenadas a -20º C até o momento das análises.

As concentrações de creatinina foram determinadas por meio de kits comerciais (Laborlab®), utilizando reação enzimática calorimétrica cinética em aparelho SBA-200 CELM®. Para a realização dessa análise, 100 µL de urina foram diluídos em 4.900 µL de água deionizada. Os resultados obtidos foram calculados pela seguinte fórmula: creatinina (mg/dL) = creatinina (mg/dL)\*0,020\*50 (COOPER; BIGGS, 1961).

O volume urinário total diário foi estimado dividindo-se as excreções urinárias diárias de creatinina pelos valores observados de concentração de creatinina na urina das amostras *spot*, segundo Oliveira et al. (2001b). A excreção urinária diária de creatinina foi estimada a partir da proposição de 24,05 mg/Kg de peso vivo (PV) (CHIZZOTTI et al., 2008). Dessa forma, com a excreção média diária de creatinina e a concentração de creatinina (mg/dL) na amostra *spot* de urina, foi estimado o volume total diário de urina, em litros por vaca/dia, para o cálculo do balanço de nitrogênio.

O consumo total de nitrogênio foi determinado dividindo-se o valor da PB das amostras por 6,25, obtendo-se a quantidade em gramas de nitrogênio consumida. O mesmo cálculo foi realizado com os valores de PB das fezes obtendo-se a excreção total de nitrogênio em g/Kg de MS.

Para a determinação do nitrogênio total das amostras de urina e leite, a quantidade em gramas de nitrogênio para cada 100 mL de urina ou leite foi obtida pela divisão do valor de PB da amostra pelo fator 6,25 para as amostras de urina e 6,38 para as amostras de leite (SILVA; QUEIROZ, 2002).

O balanço de nitrogênio foi obtido subtraindo o total de nitrogênio consumido em gramas pelos valores obtidos para nitrogênio na urina, nas fezes e no leite, obtendo-se os valores de nitrogênio retido em gramas e em porcentagem de nitrogênio total.

#### **4.4 Síntese de proteína microbiana**

As amostras utilizadas para análise de alantoína no leite foram coletadas 15º dia de cada período, provenientes das duas ordenhas diárias. Uma alíquota de 10 ml de leite foi diluída em 5 mL de ácido tricloroacético a 25%, filtrada em papel-filtro e congelada para posterior determinação dos teores de uréia e alantoína no leite desproteínizado. Para análise

da urina, foi coletada amostra *spot* proveniente do 15º dia de cada período experimental. Alíquotas de 50 mL de urina foram obtidas aproximadamente 4 horas após a alimentação, durante micção estimulada por massagem na vulva. A urina foi filtrada e alíquotas de 10 mL foram diluídas imediatamente em 40 mL de ácido sulfúrico a 0,036 N para evitar destruição bacteriana dos derivados de purinas e precipitação do ácido úrico. Uma amostra de urina pura foi armazenada para determinação dos compostos nitrogenados totais, de uréia e creatinina.

A concentração de creatinina foi determinada por meio de kits comerciais (Laborlab®), utilizando reação enzimática colorimétrica cinética em aparelho SBA-200 Celm®. O volume urinário total diário foi estimado dividindo-se as excreções urinárias diárias de creatinina pelos valores observados de concentração de creatinina na urina das amostras *spot* (OLIVEIRA et al., 2001b).

A excreção urinária diária de creatinina foi estimada a partir da excreção média diária, estabelecida de 24,05 mg/Kg de PV para vacas leiteiras (CHIZZOTTI et al., 2008). Dessa forma, com a excreção média diária de creatinina e a concentração de creatinina (mg/dL) na amostra *spot* de urina, foi estimado o volume total diário de urina, em litros por vaca/dia. A concentração de alantoína e ácido úrico na urina e alantoína no leite foram determinados pelo método colorimétrico (FUJIHARA et al., 1987; CHEN; GOMES, 1992).

A excreção total de derivados de purinas foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretadas na urina e da quantidade de alantoína excretada no leite, expressas em mmol/dia. As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas (DP, mmol/dia), por meio da equação  $Pabs = (DP - 0,236*PV^{0,75})/0,84$ , em que 0,84 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados de purina e  $0,236*PV^{0,75}$ , a excreção endógena de derivados de purina (BOERO et al., 2001).

As purinas absorvidas também foram avaliadas, considerando-se a excreção endógena de  $0,512*PV^{0,75}$  e a recuperação de 0,70 (GONZÁLEZ-RONQUILLO et al., 2003). A síntese ruminal de compostos nitrogenados (Nmic, gN/dia) foi calculada com base nas purinas absorvidas (Pabs, mmol/dia), utilizando-se a equação:  $Nmic = (70*Pabs)/(0,83*0,134*1.000)$ , em que 70 é o conteúdo de N nas purinas (mg de N/mol) (CHEN; GOMES, 1992); 0,134, a relação N purina:N total nas bactérias (VALADARES et al., 1999a); e 0,83, a digestibilidade intestinal das purinas microbianas.



#### 4.5 Frações nitrogenadas do leite e contagem de células somáticas

Para a determinação da contagem de células somáticas e nitrogênio ureico no leite, amostras individuais de leite, de 40 mL cada, foram coletadas do 14º ao 18º dia experimental das ordenhas da manhã e tarde (60% correspondente à ordenha da manhã e 40% à ordenha da tarde), a partir do amostrador da ordenha completa. A análise da CCS foi realizada através da contagem eletrônica de células por citometria de fluxo em equipamento Somacount 300® (BENTLEY, 1995b) e a concentração de NUL pelo método enzimático espectrofotométrico de trans-reflectância em equipamento Chem-Speck 150® (BENTLEY, 1995b) no Laboratório de Fisiologia da Lactação da ESALQ – USP (Clínica do Leite).

As amostras individuais de leite foram coletadas do 18º ao 21º dia experimental para determinação das frações nitrogenadas do leite (nitrogênio total - NT, nitrogênio não protéico - NNP e nitrogênio não caseinoso - NNC). Três amostras de 40 mL de leite (60% correspondente à ordenha da manhã e 40% à ordenha da tarde), a partir do amostrador da ordenha completa, foram coletadas e armazenadas em tubos plásticos e refrigeradas a -20°C até realização das análises no Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal do VNP – FMVZ/USP.

A determinação da concentração de proteína do leite foi baseada na mensuração do nitrogênio total (NT) pelo método de Kjeldahl, conforme metodologia descrita pela *American Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1995) pelo método 33.2.11; 991.20. Para a obtenção do resultado em PB, multiplicou-se o NT pelo fator de conversão 6,38 (BARBANO et al., 1990).

As frações de NNC e de caseína do leite foram determinadas por metodologia descrita por Lynch et al. (1998). A caseína do leite foi precipitada em pH = 4,6 usando-se solução de ácido acético e acetato de sódio. Após a precipitação, a caseína foi separada por filtração e a concentração de N do filtrado (NNC), determinada pelo método de Kjeldahl (LYNCH et al., 1998). A concentração de caseína foi obtida pela subtração entre NT e NNC.

As frações de NNP e proteína verdadeira do leite foram determinadas através de metodologia descrita por Lynch et al. (1998), na qual a proteína verdadeira do leite é precipitada em solução de ácido tricloroacético a 12%. Após a precipitação, a proteína verdadeira do leite foi separada por filtração e a concentração do N do filtrado (NNP) foi

determinada pelo método de Kjeldahl. A concentração de proteína verdadeira do leite (PVerd) foi obtida da subtração da concentração de NT e NNP. A proteína do soro foi determinada a partir da subtração entre caseína e PVerd.

#### **4.6 Parâmetros metabólicos sanguíneos**

A coleta de amostras de sangue foi realizada no 16º dia de cada período por punção da veia ou artéria coccígea, anterior ao fornecimento das rações no período da manhã. As amostras foram coletadas em tubos com vácuo de 10 mL para dosagem dos parâmetros metabólicos sanguíneos glicose, colesterol total, colesterol HDL, uréia e nitrogênio ureico no soro, proteínas totais, albumina e as enzimas aspartato amino transferase e gama glutamil transferase no soro. Para dosagem de glicose no plasma, as amostras foram coletadas em tubos com vácuo de 4 mL com anticoagulante fluoreto de sódio.

Imediatamente após coleta, as amostras foram refrigeradas e centrifugadas a 2000g durante 15 minutos para a separação de soro ou plasma. O centrifugado obtido foi transferido para tubetes plásticos, identificados e armazenados a -20°C, até a realização das análises laboratoriais.

A concentração de colesterol HDL (C-HDL) foi determinada em duas etapas. A primeira envolveu a preparação prévia das amostras, e a segunda a análise propriamente dita.

As análises dos parâmetros sanguíneos foram realizadas por meio de kits comerciais (Laborlab® e CELM®) que utilizam método enzimático colorimétrico de ponto final, sendo a leitura realizada em analisador automático de bioquímica sanguínea (Sistema de Bioquímica Automático SBA-200 - CELM®).

Para a realização da análise da concentração de C-HDL, 200µL da amostra foram pipetados em tubos de 2,5 mL, juntamente com 100µL do reativo único precipitante (CELM-1763) na proporção de 2:1 e misturados manualmente por inversão suave durante 20 segundos. Em seguida as amostras foram deixadas em repouso por 10 minutos, seguido por centrifugação durante 15 minutos a 2700g. No sobrenadante, separado pela centrifugação, restaram as moléculas de HDL ligadas ao colesterol.

#### 4.7 Delineamento experimental e análises estatísticas

O delineamento experimental usado foi o quadrado latino 4x4, com arranjo fatorial de tratamentos 2x2, sendo duas fontes nitrogenadas (uréia ou farelo de soja), dois teores de proteína bruta (14,5 ou 16,0% da MS) e a interação. Os resultados foram submetidos análise estatística pelo uso do SAS (Version 9.1.3, SAS Institute, Cary, NC 2004), verificando a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias pelo Proc UNIVARIATE. Os dados foram analisados de acordo com os efeitos principais para fonte e teor de proteína bruta e a interação entre fonte e teor de proteína bruta, pelo comando Proc MIXED do SAS, adotando-se nível de significância de 5%, de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ijklm} = \mu + F_i + T_j + F_i * T_j + Q_k + A(Q)_l + P_m + e_{ijklm}$$

$Y_{ijkl}$  = é a observação referente ao i-ésima fonte nitrogenada, j-ésimo teor de PB; k-ésimo quadrado latino; l-ésimo animal dentro de quadrado latino; e m-ésimo período;  $\mu$  = média geral;  $F_i$  = efeito da fonte nitrogenada i, i = farelo de soja ou uréia;  $T_j$  = efeito do teor de PB j, j = 14,5 ou 16%;  $F_i * T_j$  = interação entre a fonte nitrogenada i e teor de PB j;  $Q_k$  = efeito do quadrado latino k, k = 1 a 3;  $A(Q)_l$  = efeito do animal l dentro de cada quadrado latino, l = 1 a 12;  $P_m$  = efeito do período m, m = 1 a 4;  $E_{ijklm}$  = erro aleatório associado a cada observação. Os graus de liberdade calculados foram realizados de acordo com o método Satterthwaite (DDFM = Satterth).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Síntese de proteína microbiana

As médias ajustadas, o coeficiente de variação bem como os efeitos para fonte nitrogenada, teor de PB e interação entre fonte nitrogenada e teor de PB para a síntese de proteína microbiana encontram-se na tabela 7.

A alantoína é o principal componente da excreção urinária dos derivados de purinas e reflete a absorção do ácido nucléico microbiano no intestino delgado além de estar relacionada à formação de proteína microbiana no rúmen (STANGASSINGER et al., 1995). A excreção de alantoína (mmol/L) na urina ( $P = 0,002$ ) foi maior para vacas alimentadas com dietas 14,5%PB em comparação com as dietas com 16% PB (19,48 vs 14,65), independentemente da fonte nitrogenada. Entretanto, não houve efeito significativo para esta variável quando analisada em mmol/dia. O aumento da ingestão de nitrogênio em dietas com teor de PB superior a 16,5% na MS é perdido, principalmente na urina (COLMENERO; BRODERICK, 2006).

Não houve efeito da fonte nitrogenada, do teor de proteína da dieta e da interação entre fonte nitrogenada e teor de PB sobre a excreção média para alantoína no leite e ácido úrico (mmol/L e mmol/dia). Neste estudo, a excreção média de alantoína no leite foi de 0,56 mmol/dia, valor inferior ao encontrado por Sousa et al. (2009) (11,8 mmol/dia) e Naves (2010) (0,76 mmol/dia). Sousa et al. (2009) estudou a inclusão de diferentes teores de caroço de algodão em dietas com cana-de-açúcar, enquanto Naves (2010) utilizou quatro fontes nitrogenadas (farelo de soja, uréia, soja crua em grão e farelo de glúten de milho) com cana-de-açúcar, variando a degradabilidade ruminal da dieta. A excreção de ácido úrico na urina, com valores médios de 13,04 mmol/dia, foram inferiores aos obtidos por Colmenero e Broderick (2006), Sousa et al. (2009) e Agle et al. (2010), que obtiveram 216,84, 26,7 e 414 mmol/dia, respectivamente, superiores aos resultados de Naves (2010), que obteve 7,34 mmol/dia, e semelhantes a Mendonça et al. (2004), que obtiveram excreção de 15 mmol/dia para ácido úrico.

A excreção de total de alantoína representou 95,4% da excreção dos derivados de purinas. Este valor está próximo do encontrado por Mendonça et al. (2004b) e Oliveira et al. (2001b), isto é 90,8 e 87,8%, respectivamente. Estes resultados indicam que a excreção de alantoína pode ser uma boa variável para mensurar a excreção dos derivados de purina, juntamente com a síntese de proteína microbiana.

Tabela 6 - Médias ajustadas e coeficiente de variação (CV) da síntese de proteína microbiana em função das dietas

Variável	Dietas <sup>1</sup>				Média	CV (%)	Efeito		
	FS		Uréia				Fonte	Teor	Int
	14,5	16,0	14,5	16,0					
	<i>mmol/L</i>								
Al-I <sup>2</sup>	0,02	0,02	0,03	0,03	0,03	82,76	0,177	0,432	0,255
Al-ur <sup>3</sup>	18,45	16,22	20,51	13,08	17,07	40,24	0,704	0,002	0,077
Ác-úr <sup>4</sup>	1,07	0,87	1,00	0,66	0,90	74,44	0,404	0,119	0,708
	<i>mmol/dia</i>								
Al-I <sup>2</sup>	0,48	0,50	0,57	0,70	0,56	89,80	0,147	0,478	0,614
Al-ur <sup>3</sup>	256,20	261,65	263,92	261,43	260,80	24,90	0,805	0,922	0,794
Ác-úr <sup>4</sup>	14,53	12,13	12,71	12,80	13,04	44,12	0,703	0,446	0,413
PT <sup>5</sup>	94,63	95,29	95,52	95,20	95,16	2,24	0,480	0,756	0,386
DP <sup>6</sup>	270,73	273,78	276,65	274,24	273,85	24,61	0,839	0,984	0,863
Pabs <sup>7</sup>	298,48	302,23	305,71	302,23	302,16	26,36	0,848	0,994	0,847
	<i>g/dia</i>								
N mic <sup>8</sup>	187,86	190,21	192,39	190,22	190,17	26,36	0,848	0,994	0,848
Pb mic <sup>9</sup>	1174,08	1188,88	1202,53	1188,91	1188,60	26,36	0,847	0,994	0,848
	<i>g PBmic/Kg NDT</i>								
EP <sup>10</sup>	87,03	86,49	87,52	84,71	86,44	28,14	0,921	0,798	0,863
	<i>L/dia</i>								
ETU <sup>11</sup>	15,85	17,94	14,04	21,32	17,29	39,23	0,546	0,001	0,052

<sup>1</sup>Dietas isoenergéticas (1,29Mcal/Kg de MS), sendo: A) 14,21% de PB e farelo de soja (FS) como fonte nitrogenada, com 65% de PDR, B) 15,57% PB FS e 65% PDR, C) 14,23% PB e Uréia (U) como fonte nitrogenada, com 70% de PDR, D) 15,62% PB U e 70% PDR, <sup>2</sup>Alantoína no leite, <sup>3</sup>Alantoína na urina, <sup>4</sup>Ácido úrico, <sup>5</sup>Purinas totais, <sup>6</sup>Derivados de purinas, <sup>7</sup>Purinas absorvíveis, <sup>8</sup>Nitrogênio microbiano, <sup>9</sup>Proteína bruta microbiana, <sup>10</sup>Eficiência produtiva (N no leite / consumo de NDT), <sup>11</sup>Excreção total de urina.

Concentração protéica de acima de 16,7% na MS proporcionou ganho sobre a produção de leite e de componentes (BRODERICK, 2003). A concentração de nitrogênio ureico no leite (NUL) reflete a concentração de N excretado na urina (JONKER et al., 1998; KOHN et al., 2002). Neste estudo, a excreção de alantoína na urina, a concentração de NNP e NUL no leite foram maiores para as dietas com 16% de PB, as quais também apresentaram maior excreção de urina.

Não houve diferença entre as dietas sobre a excreção de alantoína no leite (mmol/dia), na urina, de ácido úrico, das purinas totais, dos derivados de purina e das proteínas absorvíveis. Estes resultados indicam que a coleta total de urina pode ser substituída por uma coleta única, reduzindo-se o estresse nos animais e o tempo de coleta.

A síntese (g/dia) de nitrogênio microbiano e PB microbiana e a eficiência produtiva (g PB mic / Kg NDT) não foram influenciadas ( $P > 0,05$ ) pelas dietas (Tabela 6). A utilização de 14,5% de PB na MS em rações com cana-de-açúcar para animais com 235 DEL não afetam a síntese de nitrogênio e de PB microbiana. A produção de proteína microbiana teve aumento linear com a inclusão de PDR na dieta, sem ser limitada pela quantidade de matéria orgânica digestível no rúmen (REYNAL; BRODERICK, 2005).

A excreção média de urina (L/dia) foi maior ( $P = 0,001$ ) para os tratamentos com 16% de PB em relação aos tratamentos com 14,5% de PB em aproximadamente 24% ou 4,7 L em (19,63 vs 14,95 L/dia). Houve tendência ( $P = 0,052$ ) de interação entre fonte nitrogenada e teor de PB sobre a excreção total de urina (ETU) (L/dia). O aumento do teor protéico da dieta causa maior concentração do N urinário (g/L) (LEONARDI et al., 2003) e da excreção de urina (L/dia) de vacas em lactação (REYNAL; BRODERICK, 2005; OLMOS COLMENERO; BRODERICK, 2006).

Para cada incremento de uma unidade percentual na proteína na dieta, foi observado incremento de 2 litros de urina (DINN et al., 1998). Para vacas alimentadas com dietas com excesso de N, maior volume urinário é necessário para a eliminação do nitrogênio (HOLTER et al., 1982). O aumento do teor de PB na dieta aumentou a ETU, mas sem efeito sobre a excreção de alantoína (COLMENERO; BRODERICK, 2006). A variação média do teor de PB no presente foi de 1,37% e proporcionou aumento da produção de urina em 4,7 litros, ou seja, aumento de 3,43 litros de urina por cada incremento de uma unidade percentual de PB na dieta. Portanto, as vacas com média de 235 DEL, alimentadas as rações com 14,5% de PB

apresentaram menor ETU em relação às rações com 16% de PB, sendo o teor de PB mais indicado para estes animais.

## 5.2 Frações Nitrogenadas do leite

As médias ajustadas para as frações nitrogenadas do leite, distribuídas em relação às dietas encontram-se na Tabela 7. Não foi observado efeito da variação da fonte nitrogenada, do teor de proteína bruta da dieta e interação sobre o NNC, caseína, proteínas do soro e relação caseína:proteína verdadeira.

O NNP foi influenciado pelo teor de PB da dieta ( $P = 0,009$ ), sendo maior para as dietas com 16% de PB em relação as dietas com 14,5% de PB (0,22 vs 0,20%). Houve tendência para interação entre a fonte nitrogenada e o teor de proteína bruta da dieta para a PB ( $P = 0,078$ ) e proteína verdadeira ( $P = 0,059$ ) do leite.

O teor de proteína do leite tem grande correlação com a síntese de proteína microbiana, uma vez que esta apresenta alto valor biológico, é rica em aminoácidos essenciais para o ruminante, com perfil aminoacídico semelhante ao da proteína do leite e com menor custo de produção. Por este motivo as dietas devem favorecer a máxima síntese de proteína microbiana. Em dietas desbalanceadas ou com excesso de PB ou PDR há o aumento da concentração de compostos de origem não protéica no leite, que apesar de incrementar a PB do leite, não favorecem o rendimento dos produtos lácteos, por não causar aumento da proteína verdadeira.

Houve aumento da porcentagem e produção de proteína láctea em resposta a maior quantidade de N na dieta, causado pelo aumento da PDR, que aumentou a síntese de proteína microbiana (KALSCHEUR et al., 2006). Houve redução linear da concentração de proteína verdadeira do leite, do NUL e NUP com a redução do teor de PDR (13,2 para 10,6% da MS) para vacas no meio de lactação (REYNAL; BRODERICK, 2005).

O fornecimento de lisina protegida da ação bacteriana a vacas lactantes provocou aumento da proteína verdadeira do leite para vacas em final de lactação ( $P = 0,05$ ) (SWANEPOEL et al., 2010). Neste estudo, o teor médio de caseína (2,51%) foi superior aos resultados encontrados por Bateman II et al. (1999) (2,24%) e Gandra et al. (2009) (2,38%),





Os resultados médios obtidos para proteína do soro neste estudo foram superiores ao encontrado por Aquino et al. (2008) (0,46%), e inferiores aos obtidos por Sampelayo II et al. (1999) (0,82%), resultado que pode estar relacionado com a qualidade da proteína da dieta.

Houve interação ( $P = 0,005$ ) entre a fonte nitrogenada e teor de PB da dieta (Figura 1) para o nitrogênio ureico no leite (NUL). A concentração do NUL foi maior para os tratamentos com 16,0% de PB ( $P < 0,001$ ) em comparação as dietas com 14,5% de PB (14,55 vs 13,24 mg/dL).

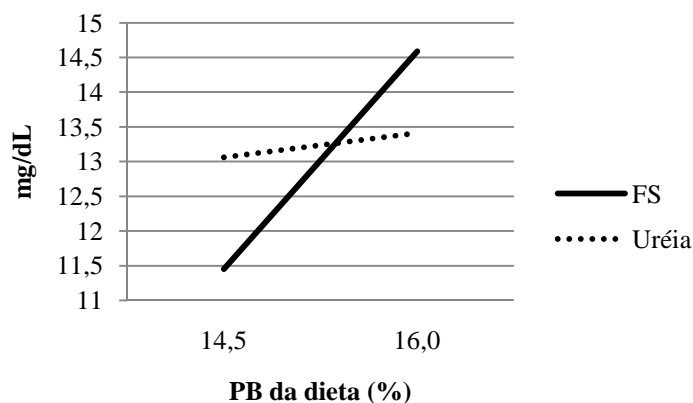


Figura 1 - Interação entre a fonte nitrogenada e o teor de proteína bruta da dieta sobre o NUL

O resultado médio para NUL foi semelhante ao encontrado em outros estudos (BRODERICK et al., 1993; LEONARDI et al., 2003; KALSCHEUR et al., 2006; CORDEIRO et al., 2007; SOUSA et al., 2009; NAVES, 2010). A elevação do teor de PB (13,5 para 19,4% da MS) aumentou da concentração de NUL (OLMOS COLMENERO; BRODERICK, 2006). Houve aumento linear do NUL, que variou de 9,5 mg/dL para vacas alimentadas com dietas contendo baixo teor de PDR para 16,4 mg/dL para vacas alimentadas com dietas com alta PDR (KALSCHEUR et al., 2006).

As dietas que continham uréia como fonte nitrogenada principal foi mais eficiente, com menor excreção de NUL. A produção de leite com alta concentração de NUL é indicativo de excesso de PB na dieta, o que onera o custo alimentar e reduz a eficiência produtiva. Os resultados obtidos para NUL neste estudo estão de acordo com Broderick (2005), valores entre 12 e 17 mg/dL indicam adequado balanceamento de PDR e de energia fermentada no rúmen, com maior eficiência da utilização do nitrogênio dietético. Esta idéia é

reforçada pela eficiência produtiva (N leite / N ingerido) (Tabela 8), que não apresentou diferença entre os tratamentos, mostrando que vacas com média de 235 DEL recebendo cana-de-açúcar como volumoso podem ser suplementadas com 14,5 % de PB na dieta, sem afetar o desempenho produtivo, ficando a escolha do tipo de fonte a ser utilizado por conta do custo de oportunidade do alimento.

O número de estudos que avaliam o impacto ambiental causado pela criação animal, em especial os bovinos, tem crescido nos últimos anos. Novas linhas de pesquisa que comprovam o uso de teores reduzidos de proteína da dieta a partir do correto balanceamento de PDR e PNDR com os carboidratos da dieta, sem afetar o desempenho animal tem surgido. É de suma importância a minimização da contaminação ambiental causada pelo uso incorreto da nutrição. Entretanto, deve-se encontrar um ponto no qual a redução do nitrogênio da dieta esteja em equilíbrio com a quantidade excretada, sem prejudicar o desempenho animal.

As dietas experimentais não influenciaram o LogCCS, que apresentou valor médio de 2,06 ou 177,8 células/mL, o que indica boa saúde do úbere dos animais utilizados.

A utilização de 14,5% de PB em dietas a base de farelo de soja ou uréia para vacas com média de 235 DEL recebendo cana-de-açúcar como volumoso não representa prejuízos ao desempenho animal, além de contribuir para a redução da contaminação ambiental por compostos nitrogenados.

### **5.3 Balanço de nitrogênio**

As médias ajustadas para consumo total de nitrogênio (g/dia), a excreção de nitrogênio fecal (g/dia e % N total), na urina e no leite, o balanço de nitrogênio (g/dia e % N total), a eficiência nitrogenada (g de N no leite / N consumido) em função dos efeitos para fonte nitrogenada e teor de PB encontram-se na tabela 9.

Houve maior consumo de nitrogênio total (g/dia) para as dietas com 16% de PB em relação às dietas com 14,5% de PB (482,24 vs 428,99), explicado pela maior quantidade de nitrogênio nestas dietas. A fonte nitrogenada influenciou a excreção de N no leite (g/dia), cujos valores foram maiores (P = 0,013) para as dietas com farelo de soja em relação às dietas com uréia (104,36 vs 99,60).

Para a excreção relativa de N total (% N total), as dietas com 14,5% de PB apresentaram maior excreção de N no leite ( $P = 0,0004$ ) em relação as dietas com 16% de PB (24,1 vs 21,54 % N total). A excreção de N nas fezes apresentou tendência ( $P = 0,06$ ), maior para as dietas com uréia como fonte nitrogenada principal.

Em revisão acerca da eficiência de utilização do N da dieta (CASTILLO et al., 2000), a ingestão de N acima de 400 g/dia causou aumento da proporção de N excretada na urina, acompanhada pela quantidade de N nas fezes. Estes autores sugeriram a utilização de teores de 15,0% PB na MS, de forma a proporcionar redução da excreção do N urinário sem alteração na produção de leite. No presente estudo, o consumo médio de N foi de 454,45 g/dia, superior ao observado por Castillo et al. (2000), mas sem influencia do consumo de N sobre a excreção de N na urina. Entretanto, Colmenero e Broderick (2006) sugerem teores de PB de 16,5% na MS para vacas com aproximadamente 100 DEL, para máxima produção de leite e mínima excreção de N ao meio ambiente. A quantidade de N excretado nas fezes acompanhou a quantidade de N em ingerida (BRODERICK; CLAYTON, 1997). Baixas ingestões de compostos nitrogenados possibilitam maior conservação de uréia, ao passo que maior excreção de uréia ocorre mediante altas ingestões de nitrogênio (VALADARES et al., 1997).

O balanço nitrogenado, em gramas por, dia foi maior para as dietas com 16% de PB em relação às dietas com 14,5% de PB (91,11 vs 140,0), enquanto o balanço relativo de N (% N total), apresentou tendência ( $P = 0,082$ ) para as dietas com maior teor protéico, devido à maior concentração de N nas dietas com 16,0% de PB.

Mendonça et al. (2004) não observaram diferença para a excreção e nitrogênio (g/dia) na urina, nas fezes e no leite de vacas que receberam silagem de milho com relação volumoso:concentrado (V:C) de 60:40, com base na MS, ou à base de cana-de-açúcar (CA) com relação V:C de 60:40, com 0,35 ou 1% de uréia+sulfato de amônio (SA) ou V:C de 50:50 com 1% de uréia+SA.

As dietas com 14,5% de PB apresentaram maior eficiência nitrogenada (g de N no leite / g de N consumido) ( $P = 0,001$ ) em comparação as dietas com 16% de PB (24,0 vs 21,5%). As dietas com 14,5% de PB apresentaram menor excreção de compostos nitrogenados, principalmente no leite, que pode ter sido acompanhada do aumento da reciclagem endógena de N, o que aumentou o aproveitamento do N ingerido e sua conversão em proteína láctea.

Tabela 8 - Médias ajustadas e coeficiente de variação (CV) para o balanço de nitrogênio em função das dietas

Variável	Dietas				Média	CV (%)	Efeito		
	FS		Uréia				Fonte	Teor	Int
	14,5	16,0	14,5	16,0					
<i>Consumo (g/dia)</i>									
NT <sup>2</sup>	436,94	483,84	421,03	480,63	454,45	12,68	0,448	0,0002	0,613
<i>Excreção N<sup>3</sup> (g/dia)</i>									
Fecal	67,29	68,74	78,47	74,64	72,12	35,68	0,181	0,850	0,675
Urinário	163,77	151,48	167,28	188,54	168,09	40,58	0,280	0,810	0,370
Leite	103,70	105,01	99,45	99,74	101,96	17,37	0,013	0,660	0,779
<i>Balanço (g/dia)</i>									
Nitrogênio	104,63	158,26	77,58	121,74	114,18	71,88	0,107	0,016	0,806
<i>Excreção de N<sup>3</sup> (% Nitrogênio Total)</i>									
Fecal	15,04	14,17	18,68	15,55	15,86	36,89	0,060	0,130	0,386
Urinário	38,54	31,08	38,41	39,70	37,07	39,99	0,298	0,447	0,283
Leite	24,19	21,89	24,00	21,19	22,88	20,74	0,498	0,0004	0,689
<i>Balanço (% Nitrogênio Total)</i>									
Nitrogênio	22,84	32,85	19,48	24,51	24,71	69,89	0,171	0,082	0,556
<i>g N<sup>3</sup> no Leite/g N<sup>3</sup> Consumido</i>									
Eficiência	0,24	0,22	0,24	0,21	0,23	21,08	0,452	0,001	0,801

<sup>1</sup>Dietas isoenergéticas (1,29Mcal/Kg de MS), sendo: A) 14,21% de PB e farelo de soja (FS) como fonte nitrogenada, com 65% de PDR, B) 15,57% PB FS e 65% PDR, C) 14,23% PB e Ureia (U) como fonte nitrogenada, com 70% de PDR, D) 15,62% PB U e 70% PDR, <sup>2</sup>Nitrogênio Total; <sup>3</sup>Nitrogênio.

Nenhuma das dietas experimentais provocou balanço negativo de N, de onde se conclui que o consumo de proteína atendeu às exigências protéicas dos animais. Os resultados obtidos são similares aos obtidos por Kalscheur et al. (2006) no qual a elevação da PDR da dieta de 6,8 para 11% da MS reduziu a eficiência do N de 36,5 para 28,2%. Estes autores observaram que o aumento do teor de PB na dieta de vacas que estão ingerindo quantidade de

PB abaixo da exigência, causa redução da eficiência nitrogenada e aumentará a excreção, principalmente na urina.

O aumento do teor de PB da dieta de 13,5 para 19,4% causou redução da eficiência do uso do nitrogênio (N leite/ N ingerido), de 36,5 para 25,4%, respectivamente (COLMENERO; BRODERICK, 2006). Foi observada redução da eficiência nitrogenada para conversão do nitrogênio alimentar em nitrogênio do leite com o aumento do teor de PDR da dieta (KALSCHEUR et al., 2006).

As dietas com menor teor de PB resultaram em menor excreção de N urinário em comparação com a dieta com alto teor, sem alterar a excreção de N fecal, a produção e composição do leite (AGLE et al., 2010).

As dietas 16,0% de PB aumentaram a excreção de compostos nitrogenados em comparação as dietas com 14,5% de PB, independentemente do tipo de fonte nitrogenada utilizada. Para vacas tenham média de 235 DEL e com produção média de 22 Kg/dia recebendo cana-de-açúcar com volumoso, o uso de dietas com 14,5% de PB mostrou-se mais eficiente acerca do uso do nitrogênio.

#### **5.4 Parâmetros metabólicos sanguíneos**

Os parâmetros metabólicos sanguíneos em vacas leiteiras podem ser usados para estimar o processo de adaptação metabólica a novas situações fisiológicas ou alimentares. A uréia, a albumina e as proteínas totais são utilizadas para avaliação da nutrição protéica, enquanto a glicose, o beta-hidroxibutirato, os ácidos graxos livres e o colesterol, para avaliação energética da dieta. A concentração de uréia plasmática indica a taxa de desintoxicação da amônia no fígado, enquanto a concentração de proteínas totais indica a absorção de proteínas intestinais. As médias ajustadas, o coeficiente de variação, e os efeitos para fonte nitrogenada, teor de PB da dieta e interação entre fonte nitrogenada e teor de PB para os parâmetros metabólicos sanguíneos encontram-se na tabela 9.

Houve interação entre fonte nitrogenada e teor de PB da dieta sobre o colesterol HDL ( $P = 0,003$ ) (Figura 2). Os animais alimentados com uréia apresentaram maior concentração

sangüínea de colesterol total (mg/dL) (198,75 vs 190,15) e albumina (g/L) (2,51 vs 2,44) em relação às vacas alimentadas com farelo de soja como fonte nitrogenada principal.

As vacas alimentadas com dietas com 16% de PB aumentaram a concentração (mg/dL) da uréia sangüínea ( $P = 0,004$ ) e do nitrogênio ureico no soro ( $P = 0,004$ ). Não foi observado efeito da fonte nitrogenada, do teor de PB e interação sobre a concentração sangüínea de glicose, proteínas totais e para as enzimas aspartato glutamil transferase e gama glutamil transferase.

As altas concentrações de nitrogênio no sangue e nos produtos finais do metabolismo protéico indicam ineficiência no uso da proteína da dieta em vacas de leite ou excesso de N na dieta (BRODERICK; CLAYTON, 1997).

O valor de referência da glicemia em ruminantes varia de 40 a 60 mg/dL (FRASER, 1991). Neste estudo, o valor médio para a glicose sangüínea foi 75,72 mg/dL, superior ao resultado encontrado por Naves (2010) (54,69 mg/dL), o que indica excesso de energia para animais com produção média de 22 Kg/dia.

A interação entre fonte nitrogenada e teor de PB da dieta sobre o colesterol-HDL não se explicam em função das dietas, uma vez que o consumo de extrato etéreo não apresentou diferença significativa entre os tratamentos (dados não publicados<sup>1</sup>).

A concentração sangüínea de uréia menor que 11 mg de N/dL indica quantidade de insuficiente de PDR na dieta (BRODERICK et al., 1993), e concentração acima de 19 mg/dL pode estar associada à redução da taxa de prenhez em vacas (CANFIELD et al., 1990; FERGUSON et al., 1993; BUTLER et al., 1996). Vacas alimentadas com cana-de-açúcar apresentaram concentração de NUP entre 15 e 40 mg/dL (VILELA et al., 2007). O aumento do teor de NNP na dieta provocou aumento linear crescente da concentração plasmática de uréia (OLIVEIRA, et al., 2001b). Neste estudo, a concentração média de NUP foi 27,96 mg/dL, semelhante aos resultados obtidos por Naves (2010) (28,0 mg/dL), inferior aos resultados de Oliveira et al. (2001a) e Mendonça et al (2004) (42,68 e 52 mg/dL) e superiores aos obtidos por Voltolini et al. (2008) e Sousa et al. (2009) (19,42 e 18,25 mg/dL).

As vacas alimentadas com dietas com 16,0% de PB na MS apresentaram maior concentração de uréia e NUS, possivelmente pela maior concentração deste nutriente na dieta,

---

<sup>1</sup> Trabalho de conclusão de curso para obtenção de título de mestre apresentado ao Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ USP 2011 "Fontes nitrogenada e teor de PB em dietas com cana de açúcar para vacas lactantes: produção, composição do leite, consumo e digestibilidade".

que reflete excesso de N circulante no organismo. O excesso de N nas dietas com 16% de PB para vacas com 253 DEL e produção média de 22 Kg/dia é comprovada pela maior excreção total de urina (Tabela 6), de N no leite (Tabela 7) e na urina (Tabela 8). Vacas alimentadas com 23,4% de PB na MS apresentaram maior a concentração de uréia no sangue em relação às dietas com 19,5 e 21,4% de PB (GHORBANI et al., 2011). A baixa concentração de uréia sanguínea resulta em maior eficiência produtiva e redução da excreção de compostos nitrogenados ao ambiente. Entretanto, a baixa concentração de nitrogênio pode comprometer o desempenho produtivo (KALSCHEUR et al., 2006).

Tabela 9 - Médias ajustadas e coeficiente de variação (CV) dos metabólitos plasmáticos em função das dietas

Variável	Dietas				Média	CV (%)	Efeito		
	FS		Uréia				Fonte	Teor	Int
	14,5	16,0	14,5	16,0					
	<i>mg/dL</i>								
Glicose	74,75	75,33	75,10	77,71	75,72	9,71	0,513	0,446	0,628
COT <sup>2</sup>	192,90	187,40	195,30	202,20	194,40	17,29	0,028	0,849	0,103
C-HDL <sup>3</sup>	40,08	56,42	57,5	37,92	47,98	57,16	0,923	0,771	0,003
URE	22,92	31,00	27,33	30,58	27,96	33,77	0,280	0,004	0,194
NUS <sup>5</sup>	10,71	14,49	12,77	14,29	13,07	33,77	0,281	0,004	0,194
	<i>g/L</i>								
PT <sup>6</sup>	5,94	6,00	6,06	6,32	6,08	9,57	0,117	0,248	0,463
Alb <sup>7</sup>	2,44	2,44	2,49	2,52	2,47	4,76	0,017	0,582	0,497
	<i>U/L</i>								
AST <sup>8</sup>	55,97	54,67	54,92	58,83	56,1	13,87	0,257	0,339	0,063
GGT <sup>9</sup>	2,59	2,59	2,67	2,83	2,67	27,19	0,171	0,489	0,494

<sup>1</sup>Dietas isoenergéticas (1,29Mcal/Kg de MS), sendo: A) 14,21% de PB e farelo de soja (FS) como fonte nitrogenada, com 65% de PDR, B) 15,57% PB FS e 65% PDR, C) 14,23% PB e Ureia (U) como fonte nitrogenada, com 70% de PDR, D) 15,62% PB U e 70% PDR, <sup>2</sup>Colesterol total, <sup>3</sup>Colesterol HDL— lipoproteína de alta densidade; <sup>4</sup> Uréia plasmática; <sup>5</sup>Nitrogênio ureico no soro; <sup>6</sup>Proteínas totais; <sup>7</sup>Albumina, <sup>8</sup>Aspartato aminotransferase; <sup>9</sup>Gama glutamil transferase.

O excesso de PB na dieta causa alterações metabólicas que favorecem a excreção do excesso de N na forma de uréia, o que eleva a demanda energética e diminui a eficiência do uso do nitrogênio. Fatores como a produção de leite, *status* energético e manejo reprodutivo

podem atenuar os efeitos do excesso de PB na dieta (CARROLL et al., 1994). A elevação do teor de PB (13,5; 15,0; 16,5; 17,9 e 19,4% da MS) da dieta de vacas recebendo silagem de milho, aumentou a concentração de NUP com a elevação do teor de PB (COLMENERO; BRODERICK, 2006). O aumento do teor protéico da dieta (11,4 – 17,3 % da MS) de vacas aos 151 DEL aumentou concentração de NUP ( $P = < 0,001$ ) e de proteínas totais ( $P = < 0,01$ ), mas sem alterar a concentração de albumina e glicose sanguínea (LAW et al., 2009). Os resultados do presente estudo para NUS são semelhantes aos obtidos por Reynal e Broderick (2005) e Brito et al. (2007). A redução do teor de PDR de 13,2 para 10,6% da MS causou redução linear do NUS ( $P < 0,01$ ) (REYNAL; BRODERICK, 2005). Houve efeito da fonte nitrogenada sobre o NUS ( $P = 0,02$ ), maior para as dietas com uréia como fonte nitrogenada principal, em relação ao farelo de soja, de algodão ou de canola (BRITO et al., 2006).

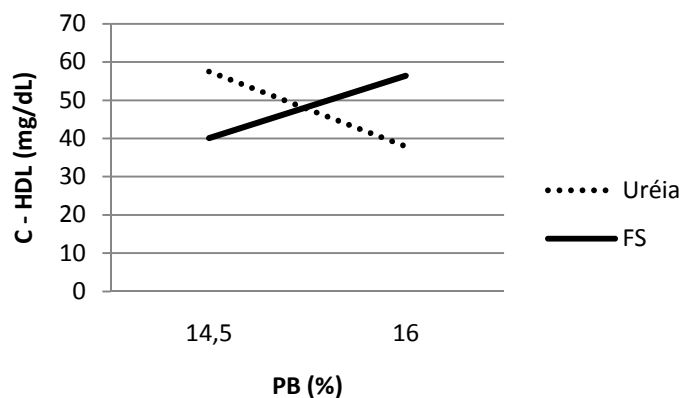


Figura 2 - Interação entre a fonte nitrogenada e o teor de proteína bruta da dieta sobre o colesterol HDL

A concentração de uréia plasmática está relacionada com o metabolismo protéico de curto prazo e a albumina, de longo prazo (PAYNE; PAYNE, 1987). As vacas tendem a diminuir a albuminemia (excesso de albumina no sangue) após o parto, dado que a demanda de aminoácidos para a síntese protéica no leite reduz a síntese de outras proteínas, o que favorece a redução da concentração de albumina com o avançar da lactação (CONTRERAS, 2000). No presente estudo, a concentração de albumina foi maior ( $P = 0,017$ ) para vacas alimentadas com dietas com uréia como fonte nitrogenada principal em relação às dietas com farelo de soja (2,51 vs 2,44 mg/dL).



Enzimas hepáticas como a aspartato amino transferase e gama glutamil transferase sofrem alteração da concentração em caso de disfunção hepática, sendo freqüentemente avaliadas como indicadoras de lesões hepáticas (BOBE et al., 2004). Vacas aos 77 dias de lactação apresentaram 40,0 U/L para a enzima AST quando suplementadas com propilenoglicol (HOEDEMAKER et al., 2004). A suplementação com diferentes fontes de gordura de vacas com 180 DEL apresentou concentração média de 42,08 U/L para a enzima AST e 17,85 U/L para a GGT (FREITAS JÚNIOR et al., 2010). No presente estudo, as concentrações médias para as enzimas AST e GGT foram 56,10 e 2,68 U/L, respectivamente.

As dietas experimentais não provocaram alteração na concentração de glicose sanguínea. Não houve efeito das dietas sobre a concentração de proteínas totais do sangue, o que indica manutenção do fluxo e absorção de proteínas intestinais. A concentração de uréia e NUS foi afetada pelo teor de proteína bruta, o que indica que vacas com média de 235 DEL recebendo cana-de-açúcar como volumoso podem receber dietas com 14,5% de PB (na MS), sem afetar o desempenho produtivo, minimizando alterações metabólicas.

## 6 CONCLUSÕES

A utilização de dietas com 14,5 de PB a partir do farelo de soja ou uréia com cana-de-açúcar como volumoso para vacas na fase intermediária/final da lactação não altera o consumo e o desempenho produtivo. Vacas alimentadas com 16,0% de proteína bruta apresentam maior concentração e excreção de compostos nitrogenados no leite, sangue e fezes.

Vacas com média de 235 DEL, recebendo cana-de-açúcar como volumoso podem ser suplementadas com 14,5% de proteína bruta com farelo de soja ou uréia sem alteração do desempenho produtivo, com maior a eficiência de utilização do nitrogênio da dieta. A escolha da fonte nitrogenada deverá ser definida pelo custo de aquisição do alimento.

## REFERÊNCIAS

- AGLE, M.; HRISTOV, A. N.; ZAMAN, S.; SCHNEIDER, C.; NDEGWA, P.; VADDELLA, V. K. The effects of ruminally degraded protein on rumen fermentation and ammonia losses from manure in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 4, p. 1625-1637, 2010.
- AQUINO, A. A.; BOTARO, B. G.; IKEDA, F. D.; RODRIGUES, P. H. M.; MARTINS, M. D.; DOS SANTOS, M. V. Effect of increasing dietary urea levels on milk yield and composition of lactating cows. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 4, p. 881-887, 2007.
- AQUINO, A. A.; LIMA, Y. R.; BOTARO, B. G.; ALBERTO, C. S. S.; PEIXOTO, K. C.; SANTOS, M. V. Effects of dietary urea levels on milk protein fractions of Holstein cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 140, n. 1-2, p. 191-198, 2008.
- ARIELI, A.; SHABI, Z.; BRUCKENTAL, I.; TAGARI, H.; AHARONI, Y.; ZAMWELL, S.; VOET, H. Effect of the Degradation of Organic Matter and Crude Protein on Ruminal Fermentation in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 79, n. 10, p. 1774-1780, 1996.
- BACH, A.; HUNTINGTON, G. B.; CALSAMIGLIA, S.; STERN, M. D. Nitrogen metabolism of early lactation cows fed diets with two different levels of protein and different amino acid profiles. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 11, p. 2585-2595, 2000.
- BAKER, L. D.; FERGUSON, J. D.; CHALUPA, W. Responses in urea and true protein of milk to different protein feeding schemes for dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 78, n. 11, p. 2424-2434, 1995.
- BARBANO, D. M.; CLARK, J. L.; DUNHAM, C. E.; FLEMING, J. R. Kjeldahl method for determination of total nitrogen-content of milk - collaborative study. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 73, n. 6, p. 849-859, 1990.
- BARBANO, D. M.; LYNCH, J. M. Major advances in testing of dairy products: Milk component and dairy product attribute testing. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 4, p. 1189-1194, 2006.
- BATEMAN II, H. G.; SPAIN, J. N.; KERLEY, M. S.; BELYEA, R. L.; MARSHALL, R. T. Evaluation of ruminally protected methionine and lysine or blood meal and fish meal as protein sources for lactating Holsteins. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 10, p. 2115-2120, 1999.
- BOBE, G.; YOUNG, J. W.; BEITZ, D. C. Invited review: Pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 10, p. 3105-3124, 2004.
- BOERO, P. O.; BALCELLS, J.; MARTIN-ORUE, S. M.; LIANG, J. B.; GUADA, J. A. Excretion of purine derivatives in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. **Livestock Production Science**, v. 68, n. 2-3, p. 243-250, 2001.
- BOTARO, B. G.; CORTINHAS, C. S.; MESTIERI, L.; MACHADO, P. F.; SANTOS, M. V. Composição e frações proteicas do leite de rebanhos bovinos comerciais. **Veterinaria e Zootecnia**, v. 18, n. 1, p. 81-89, 2011.

- BRITO, A. F.; BRODERICK, G. A. Effects of different protein supplements on milk production and nutrient utilization in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 4, p. 1816-1827, 2007.
- BRITO, A. F.; BRODERICK, G. A.; REYNAL, S. M. Effect of varying dietary ratios of alfalfa silage to corn silage on omasal flow and microbial protein synthesis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 10, p. 3939-3953, 2006.
- BRITO, J. R. F.; CALDEIRA, G. A. V.; VERNEQUE, R. D.; BRITO, M. Sensitivity and specificity of the California Mastitis Test as a diagnostic tool for subclinical mastitis in quarter somatic cell count estimation. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 17, n. 2, p. 49-53, 1997.
- BRODERICK, G. A. Effects of varying dietary protein and energy levels on the production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 4, p. 1370-1381, 2003.
- BRODERICK, G. A.; CLAYTON, M. K. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 11, p. 2964-2971, 1997.
- BRODERICK, G. A.; CRAIG, W. M.; RICKER, D. B. Urea versus true protein as supplement for lactating dairy-cows fed grain plus mixtures of alfalfa and corn silages. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 8, p. 2266-2274, 1993.
- BROUDISCOU, L.; JOUANY, J. P. Reassessing the manipulation of protein-synthesis by rumen microbes. **Reproduction Nutrition Development**, v. 35, n. 5, p. 517-535, 1995.
- BUTLER, W. R.; CALAMAN, J. J.; BEAM, S. W. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v. 74, n. 4, p. 858-865, 1996.
- CALIXTO, M.; JOBIM, C. C.; DOS SANTOS, G. T.; BUMBIERIS, V. H. Blood constituents of holstein cows fed with corn or elephant-grass silages. **Semina-Ciencias Agrarias**, v. 31, n. 2, p. 429-437, 2010.
- CAMPOS, R. Alguns indicadores metabólicos no leite para avaliar a relação nutrição: fertilidade. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 29, 2002, Gramado. **Anais...** Gramado: Combravet, 2002. p.40-48.
- CANFIELD, R. W.; SNIFFEN, C. J.; BUTLER, W. R. Effects of excess degradable protein on postpartum reproduction and energy balance in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 9, p. 2342-2349, 1990.
- CARROLL, D. J.; HOSSAIN, F. R.; KELLER, M. R. Effect of supplemental fish-meal on the lactation and reproductive-performance of dairy-cows. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 10, p. 3058-3072, 1994.
- CASTILLO, A. R.; KEBREAB, E.; BEEVER, D. E.; FRANCE, J. A review of efficiency of nitrogen utilisation in lactating dairy cows and its relationship with environmental pollution. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v. 9, n. 1, p. 1-32, 2000.
- CHASE, L. E. Environmental considerations in developing dairy rations. In: CONFERENCE NAME, 1994, Rochester, NY. **Anais...** [S.l]: Cornell University, 56-62 p.
- CHEN, X. B.; GOMES, M. J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of technical details.

(Occasional publication). . In: CONFERENCE NAME, 1992, Aberdeen. **Anais...** [S.l]: Rowett Research Institute, 1992, 21 p.

CHIZZOTTI, M. L.; VALADARES, S. D.; VALADARES, R. F. D.; CHIZZOTTI, F. H. M.; TEDESCHI, L. O. Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. **Livestock Science**, v. 113, n. 2-3, p. 218-225, 2008.

CHRISTENSEN, R. A.; CAMERON, M. R.; CLARK, J. H.; DRACKLEY, J. K.; LYNCH, J. M.; BARBANO, D. M. Effects of amount of protein and ruminally protected amino acids in the diet of dairy cows fed supplemental fat. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 6, p. 1618-1629, 1994.

CLARK, J. H.; KLUSMEYER, T. H.; CAMERON, M. R. Microbial protein-synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy-cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 8, p. 2304-2323, 1992.

COLMENERO, J. J. O.; BRODERICK, G. A. Effect of amount and ruminal degradability of soybean meal protein on performance of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 5, p. 1635-1643, 2006.

CONAB. **Acompanhamento da safra Brasileira**: Cana-de-açúcar, safra 2010-2011, terceiro levantamento, janeiro 2011. Brasília: Conab, 2011. 19 p. (Acompanhamento da safra Brasileira).

CONTRERAS, P. A. Indicadores do metabolismo protéico utilizados nos perfis metabólicos de rebanhos. In: GONZÁLEZ, F. H. D. (Ed.). **Perfil metabólico em ruminantes: Seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: UFRGS, p. 23-30, 2000.

COOPER, J. M.; BIGGS, H. G. An evaluation of four methods of measuring urinary creatinine. **Clinical chemistry**, v. 7, p. 665-673, 1961.

CORDEIRO, C. F. D.; PEREIRA, M. L. A.; MENDONCA, S. D.; ALMEIDA, P. J. P.; AGUIAR, L. V.; DE FIGUEIREDO, M. P. Intake and total digestibility of nutrients and milk production and composition in dairy cows fed with increasing crude protein levels in the diet with sugar cane and concentrates. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 6, p. 2118-2126, 2007.

CORREA, C. E. S.; PEREIRA, M. N.; OLIVEIRA, S. G.; RAMOS, M. H. Performance of Holstein cows fed sugarcane or corn silages of different grain textures. **Scientia Agricola**, v. 60, n. 4, p. 621-629, 2003.

COSTA, M. G.; CAMPOS, J. M. D.; VALADARES, S. D.; VALADARES, R. F. D.; MENDONCA, S. D.; SOUZA, D. D.; TEIXEIRA, M. D. Effects of feeding corn silage or different dietary ratios of sugarcane and concentrate on production of lactating dairy cows. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6, p. 2437-2445, 2005.

COTTA, M. A.; HESPELL, R. B. Protein and amino acid metabolism of rumen bacteria. In: MILLIGAN, L. P.; GROVUM, W. L.; DOBSON, A. (Ed.). **Control of digestion and metabolism in ruminants**. New Jersey, USA: Prentice-hall, Englewood Cliffs, 1986. p.122-136.

COULON, J. B.; HURTAUD, C.; REMOND, B.; VERITE, R. Factors contributing to variation in the proportion of casein in cows' milk true protein: a review of recent INRA experiments. **Journal of Dairy Research**, v. 65, n. 3, p. 375-387, 1998.

- DEMARCCCHI, J. O uso da cana-de-açúcar como recurso forrageiro. In: Esalq (Ed.). **XVIII Simpósio de Manejo de Pastagens**. Piracicaba: ESALQ, 2001, p.84.
- DEPETERS, E. J.; CANT, J. P. Nutritional Factors Influencing the Nitrogen Composition of Bovine Milk: A Review1. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 8, p. 2043-2070, 1992.
- DEWHURST, R. J.; DAVIES, D. R.; MERRY, R. J. Microbial protein supply from the rumen. **Animal Feed Science and Technology**, v. 85, n. 1-2, p. 1-21, 2000.
- DINN, N. E.; SHELFORD, J. A.; FISHER, L. J. Use of the Cornell Net Carbohydrate and Protein System and rumen-protected lysine and methionine to reduce nitrogen excretion from lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 1, p. 229-237, 1998.
- DIRKSEN, G.; BREITNER, W. A new quick-test for semiquantitative determination of beta-hydroxybutyric acid in bovine-milk. **Journal of Veterinary Medicine Series a-Zentralblatt Fur Veterinarmedizin Reihe a-Physiology Pathology Clinical Medicine**, v. 40, n. 9-10, p. 779-784, 1993.
- DRACKLEY, J. K.; KLUSMEYER, T. H.; TRUSK, A. M.; CLARK, J. H. Infusion of long-chain fatty acids varying in saturation and chain length into the abomasum of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 6, p. 1517-1526, 1992.
- EMMONS, D. B.; DUBÉ, C.; MODLER, H. W. Transfer of Protein from Milk to Cheese1. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 2, p. 469-485, 2003.
- EZEQUIEL, J. M. B.; QUEIROZ, M. A. A.; GALATI, R. L.; MENDES, A. R.; PEREIRA, E. M. D.; FATURI, C.; DO NASCIMENTO, V. F.; FEITOSA, J. V. Effects of sugar cane processing on digestibility, intake and rate of passage. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 5, p. 1704-1710, 2005.
- FARRELL, H. M.; JIMENEZ-FLORES, R.; BLECK, G. T.; BROWN, E. M.; BUTLER, J. E.; CREAMER, L. K.; HICKS, C. L.; HOLLAR, C. M.; NG-KWAI-HANG, K. F.; SWAISGOOD, H. E. Nomenclature of the proteins of cows' milk - sixth revision. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 6, p. 1641-1674, 2004.
- FERGUSON, J. D.; GALLIGAN, D. T.; BLANCHARD, T.; REEVES, M. Serum urea nitrogen and conception rate - the usefulness of test information. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 12, p. 3742-3746, 1993.
- FREITAS JÚNIOR, J. E.; RENNÓ, F. P.; SILVA, L. F. P.; GANDRA, J. R.; FILHO, M. M.; FODITSCH, C.; VENTURELLI, B. C. Blood parameters of dairy cows supplemented with different fat sources. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 4, p. 950-956, 2010.
- FUJIHARA, T.; ORSKOV, E. R.; REEDS, P. J.; KYLE, D. J. The effect of protein infusion on urinary-excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agricultural Science**, v. 109, p. 7-12, 1987.
- GHORBANI, B.; GHOORCHI, T.; AMANLOU, H.; ZEREHDARAN, S. Effects of using monensin and different levels of crude protein on milk production, blood metabolites and digestion of dairy cows. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 24, n. 1, p. 65-72, 2011.
- GOMEZ-VAZQUEZ, A.; PINOS-RODRIGUEZ, J. M.; GARCIA-LOPEZ, J. C.; DE LA CRUZ-LAZARO, E.; LUNA-PALOMERA, C.; SANCHEZ-HERNANDEZ, R. Nutritional value of sugarcane silage enriched with corn grain, urea, and minerals as feed supplement on

growth performance of beef steers grazing stargrass. **Tropical Animal Health and Production**, v. 43, n. 1, p. 215-220, 2011.

GONZÁLEZ-RONQUILLO, M.; BALCELLS, J.; GUADA, J. A.; VICENTE, F. Purine derivative excretion in dairy cows: Endogenous excretion and the effect of exogenous nucleic acid supply. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 4, p. 1282-1291, 2003.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SCHEFFER, F. S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: GONZÁLEZ, F. H. D. E CAMPOS, R. (Ed.). **Anais do I Simpósio de Patologia Clínica do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre, RS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003. p.73-89.

GUSTAFSSON, A. H.; PALMQUIST, D. L. Diurnal-variation of rumen ammonia, serum urea, and milk urea in dairy-cows at high and low yields. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 2, p. 475-484, 1993.

HALIBURTON, J. C.; MORGAN, S. E. Nonprotein nitrogen-induced ammonia toxicosis and ammoniated feed toxicity syndrome. **Veterinary Clinics of North America-Food Animal Practice**, v. 5, n. 2, p. 237-249, 1989.

HALL, M. B.; HUNTINGTON, G. B. Nutrient synchrony: sound in theory, elusive in practice. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. 14, E287-292, 2008. Supplement.

HERRERA-SALDANA, R.; GOMEZ-ALARCON, R.; TORABI, M.; HUBER, J. T. Influence of synchronizing protein and starch degradation in the rumen on nutrient utilization and microbial protein synthesis. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 1, p. 142-148, 1990.

HOEDEMAKER, M.; PRANGE, D.; ZERBE, H.; FRANK, J.; DAXENBERGER, A.; MEYER, H. H. D. Periparturient propylene glycol supplementation and metabolism, animal health, fertility, and production in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 7, p. 2136-2145, 2004.

HOLTER, J. B.; BYRNE, J. A.; SCHWAB, C. G. Crude protein for high milk-production. **Journal of Dairy Science**, v. 65, n. 7, p. 1175-1188, 1982.

HOOVER, W. H.; STOKES, S. R. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 10, p. 3630-3644, 1991.

HRISTOV, A. N.; ETTER, R. P.; ROPP, J. K.; GRANDEEN, K. L. Effect of dietary crude protein level and degradability on ruminal fermentation and nitrogen utilization in lactating dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 82, n. 11, p. 3219-3229, 2004.

HUBER, J. T.; KUNG JR, L. Protein and nonprotein nitrogen utilization in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 64, n. 6, p. 1170-1195, 1981.

HUNGATE, R. E. **The rumen and its microbes**. New York: Academic Press, 1966. 533 p.

IMAIZUMI, H.; SANTOS, F. A. P.; BITTAR, C. M. M.; CORREIA, P. S.; MARTINEZ, J. C. Diet crude protein content and sources for lactating dairy cattle. **Scientia Agricola**, v. 67, n. 1, p. 16-22, 2010.

IMAIZUMI, H.; SANTOS, F. A. P.; PIRES, A. V.; NUSSIO, C. M. B.; BARNABÉ, E. C.; JUCHEM, S. O. Avaliação de diferentes fontes e teores de proteína na dieta sobre o desempenho, fermentação ruminal e parâmetros sanguíneos de vacas da raça Holandesa em final de lactação. **Acta Scientiarum**, v. 24, n. 4, p. 1031-1037, 2002.

- INTERNATIONAL DAIRY, F. **Payment systems for ex-farm milk**. Brussels: International Dairy Federation, 2006 (Bulletin of the International Dairy Federation;403).
- JONKER, J. S.; KOHN, R. A.; ERDMAN, R. A. Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 10, p. 2681-2692, 1998.
- KALSCHEUR, K. F.; BALDWIN, R. L.; GLENN, B. P.; KOHN, R. A. Milk production of dairy cows fed differing concentrations of rumen-degraded protein. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 1, p. 249-259, 2006.
- KALSCHEUR, K. F.; VANDERSALL, J. H.; ERDMAN, R. A.; KOHN, R. A.; RUSSEK-COHEN, E. Effects of dietary crude protein concentration and degradability on milk production responses of early, mid, and late lactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 3, p. 545-554, 1999.
- KOHN, R. A.; KALSCHEUR, K. F.; RUSSEK-COHEN, E. Evaluation of models to estimate urinary nitrogen and expected milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 1, p. 227-233, 2002.
- LAW, R. A.; YOUNG, F. J.; PATTERSON, D. C.; KILPATRICK, D. J.; WYLIE, A. R. G.; MAYNE, C. S. Effect of dietary protein content on animal production and blood metabolites of dairy cows during lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 3, p. 1001-1012, 2009.
- LEONARDI, C.; STEVENSON, M.; ARMENTANO, L. E. Effect of two levels of crude protein and methionine supplementation on performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 12, p. 4033-4042, 2003.
- LYNCH, J. M.; BARBANO, D. M.; FLEMING, J. R. Indirect and direct determination of the casein content of milk by Kjeldahl nitrogen analysis: Collaborative study. **Journal of Aoac International**, v. 81, n. 4, p. 763-774, 1998.
- MAGALHAES, A. L. R.; CAMPOS, J. M. D.; VALADARES, S. D.; TORRES, R. D.; NETO, J. M.; DE ASSIS, A. J. Sugar cane as a substitute for corn silage in diets for milking cows. performance and economical viability. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 5, p. 1292-1302, 2004.
- MCCORMICK, M. E.; FRENCH, D. D.; BROWN, T. F.; CUOMO, G. J.; CHAPA, A. M.; FERNANDEZ, J. M.; BEATTY, J. F.; BLOUIN, D. C. Crude protein and rumen undegradable protein effects on reproduction and lactation performance of Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 12, p. 2697-2708, 1999.
- MENDONÇA, S. S.; CAMPOS, J. M. S.; VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D.; SOARES, C. A.; LANA, R. P.; QUEIROZ, A. C.; ASSIS, A. J.; PEREIRA, M. L. A. Consumo, digestibilidade aparente, produção e composição do leite e variáveis ruminais em vacas leiteiras alimentadas com dietas à base de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 2, p. 481-494, 2004.
- MOSCARDINI, S.; WRIGHT, T. C.; LUIMES, P. H.; MCBRIDE, B. W.; SUSMEL, P. Effects of rumen-undegradable protein and feed intake on purine derivative and urea nitrogen: Comparison with predictions from the Cornell net carbohydrate and protein system. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 9, p. 2421-2429, 1998.
- MUCK, R. E. Urease activity in bovine feces. **Journal of Dairy Science**, v. 65, n. 11, p. 2157-2163, 1982.



- NAVES, J. R. **Utilização de fontes nitrogenadas com diferentes taxas de degradabilidade em dietas a base de cana de açúcar para vacas leiteiras**. 2010. 104 f . Dissertação (Mestrado em Ciências). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - VNP, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2010.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger principles of biochemistry**. New York: Worth, 2000. 1152 p.
- NOUSIAINEN, J.; SHINGFIELD, K. J.; HUHTANEN, P. Evaluation of milk urea nitrogen as a diagnostic of protein feeding. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 2, p. 386-398, 2004.
- NRC. **Nutrien Requeriment of Beef Cattle**. Washington: National Academy Press, 1996. v. 7, 242 p.
- NRC. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. Washington: National Academy Press ,1989. v. 6, 158 p.
- NRC. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. Washington: National Academy Press, 2001. v. 7, 381 p.
- OLIVEIRA, A. S.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. V.; CECON, P. R.; OLIVEIRA, G. A.; SILVA, R. M. N.; COSTA, M. A. L. Intake, Apparent Digestibility, Milk Composition and Production of Lactating Cows Fed Four non Protein Nitrogen Compounds Levels. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 4, p. 1358-1366, 2001a.
- OLIVEIRA, A. S.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES, S. D.; CECON, P. R.; RENNO, L. N.; DE QUEIROZ, A. C.; CHIZZOTTI, M. L. Microbial protein production, purine derivatives and urea excretion estimate in lactating dairy cows fed isoprotein diets with different non protein nitrogen compounds levels. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 5, p. 1621-1629, 2001b.
- OLIVEIRA, J. C. M.; TIMM, L. C.; TOMINAGA, T. T.; CASSARO, F. A. M.; REICHARDT, K.; BACCHI, O. O. S.; DOURADO-NETO, D.; CAMARA, G. M. D. Soil temperature in a sugar-cane crop as a function of the management system. **Plant and Soil**, v. 230, n. 1, p. 61-66, 2001c.
- OLIVEIRA, M. V. M.; LANA, R. D.; JHAM, G. N.; PEREIRA, J. C.; PEREZ, J. R. O.; VALADARES, S. D. Effects of different dietary levels of monensin and protein on intake and ruminal fermentation in bovines. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 5, p. 1763-1774, 2005.
- OLMOS COLMENERO, J. J.; BRODERICK, G. A. Effect of dietary crude protein concentration on milk production and nitrogen utilization in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 5, p. 1704-1712, 2006.
- ØRSKOV, E. R.; MILLER, E. L. **Protein evaluation in ruminants**. Netherlands: Elsevier: B.V., 1988. 103-127 p. (Feed Science).
- PATTON, R. A. Effect of rumen-protected methionine on feed intake, milk production, true milk protein concentration, and true milk protein yield, and the factors that influence these effects: A meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 5, p. 2105-2118, 2010.
- PAYNE, J. M.; PAYNE, S. **The metabolic profile test**. Oxford: Oxford University Press, 1987. 1-179 p.

- PEDROSO, A. D.; NUSSIO, L. G.; RODRIGUES, A. D.; SANTOS, F. A. P.; MOURAO, G. B.; BARIONI, W. Performance of dairy cows fed rations produced with sugarcane silages treated with additives or fresh sugarcane. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 9, p. 1889-1893, 2010.
- PERES, J. R. O leite como ferramenta do monitoramento nutricional. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; DÜRR, J. W.; FONTANELI, R.S. (Ed.). **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras** Porto Alegre, RS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001, p. 30-45.
- PINA, D. D.; VALADARES, S. D.; VALADARES, R. F. D.; DETMANN, E.; CAMPOS, J. M. D.; FONSECA, M. A.; TEIXEIRA, R. M. A.; DE OLIVEIRA, A. S. Estimation of microbial protein synthesis and urea nitrogen metabolism in lactating dairy cows fed diets supplemented with different protein sources. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p. 1552-1559, 2006.
- PRESTON, T. R. Nutritional limitations associated with the feeding of tropical forages. **Journal of Animal Science**, v. 54, n. 4, p. 877-884, 1982.
- PRESTON, T. R.; LENG, R. A. Sugar-cane as cattle feed. **World Animal Review**, n. 27, p. 7-12, 1978.
- RENNO, L. N.; VALADARES, S. D.; PAULINO, M. F.; LEAO, M. I.; VALADARES, R. F. D.; RENNO, F. P.; PAIXAO, M. L. Urea levels in diet for steers of four genetic groups: ruminal parameters, plasma urea, urea and creatinine excretions. **Revista Brasileira De Zootecnia-Brazilian Journal of Animal Science**, v. 37, n. 3, p. 556-562, 2008.
- REYNAL, S. M.; BRODERICK, G. A. Effect of dietary level of rumen-degraded protein on production and nitrogen metabolism in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 11, p. 4045-4064, 2005.
- ROBINSON, P. H.; BURGESS, P. L.; MCQUEEN, R. E. Influence of moisture content of mixed rations on feed intake and milk production of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 10, p. 2916-2921, 1990.
- ROSELER, D. K.; FERGUSON, J. D.; SNIFFEN, C. J.; HERREMA, J. Dietary-protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk nonprotein nitrogen in holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 2, p. 525-534, 1993.
- RUSSELL, J. B.; OCONNOR, J. D.; FOX, D. G.; VANSOEST, P. J.; SNIFFEN, C. J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets .1. Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 11, p. 3551-3561, 1992.
- SANTOS, F. A. P. Metabolismo de Proteínas. In: BERCHIELI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. (Ed.). **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006, p. 255-284.
- SANTOS, F. A. P.; SANTOS, J. E. P.; THEURER, C. B.; HUBER, J. T. Effects of rumen-undegradable protein on dairy cow performance: A 12-year literature review. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 12, p. 3182-3213, 1998.
- SATTER, L. D.; SLYTER, L. L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. **British Journal of Nutrition**, v. 32, n. 2, p. 199-208, 1974.

- SCHEPERS, A. J.; MEIJER, R. G. M. Evaluation of the utilization of dietary nitrogen by dairy cows based on urea concentration in milk. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 2, p. 579-584, 1998.
- SCHWAB, C. G. Rumen-protected amino acids for dairy cattle: Progress towards determining lysine and methionine requirements. **Animal Feed Science and Technology**, v. 59, n. 1-3, p. 87-101, 1996.
- SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. Viçosa: UFV, Impr. Univ, 2002. 235 p.
- SNIFFEN, C. J.; OCONNOR, J. D.; VANSOEST, P. J.; FOX, D. G.; RUSSELL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets .2. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 11, p. 3562-3577, 1992.
- SNIFFEN, C. J.; ROBINSON, P. H. Microbial-growth and flow as influenced by dietary manipulations. **Journal of Dairy Science**, v. 70, n. 2, p. 425-441, 1987.
- SOUSA, D. D.; CAMPOS, J. M. D.; VALADARES, S. D.; LANA, R. D.; SEDIYAMA, C. A. Z.; NETO, J. M. Feeding behavior, feed intake and digestibility, milk composition and production of cows fed maize silage or sugarcane with whole cottonseed. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 10, p. 2053-2062, 2009.
- STANGASSINGER, M.; CHEN, X. B.; LINDBERG, J. E.; GIESECKE, D. Metabolism of purines in relation to microbial production. In: ENGELHARDT, W. V.; LEONHARD-MAREK, S.; BREVES, G.; GIESECKE, D. (Ed.). **Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction**. Stuttgart, Germany: Ferdinand Enke Verlag, 1995. p. 387 - 406.
- SWAISGOOD, H. E. Review and update of casein chemistry. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 10, p. 3054-3061, 1993.
- SWANEPOEL, N.; ROBINSON, P. H.; ERASMUS, L. J. Amino acid needs of lactating dairy cows: Impact of feeding lysine in a ruminally protected form on productivity of lactating dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 157, n. 1-2, p. 79-94, 2010.
- SWENSON, M. J.; REECE, W. O. **Dukes - Fisiologia Dos Animais Domésticos**. 12 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 2006. 926 p.
- TAUPIER, L. O.; RODRIGUES, G. G. **A cana-de-açúcar**. Brasília: ABIPTI, 1999. p. 21-27. (Manual dos Derivados da Cana-de- Açúcar: diversificação, matérias-primas, derivados do bagaço, derivados do melaço, outros derivados, resíduos, energia).
- VALADARES FILHO, S. C.; ROCHA JR., V. R.; CAPPELLE, E. R. **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 279 p.
- VALADARES, R. F. D.; BRODERICK, G. A.; FILHO, S. C. V.; CLAYTON, M. K. Effect of Replacing Alfalfa Silage with High Moisture Corn on Ruminal Protein Synthesis Estimated from Excretion of Total Purine Derivatives1. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 12, p. 2686-2696, 1999a.
- VALADARES, R. F. D.; BRODERICK, G. A.; VALADARES, S. C.; CLAYTON, M. K. Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis

- estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 12, p. 2686-2696, 1999b.
- VALADARES, R. F. D.; GONÇALVES, L. C.; SAMPAIO, I. B. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 4. Concentrações de uréia plasmática e excreções de uréia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 26, n. 6, p. 1270-1278, 1997.
- VAN HORN, H. H.; NEWTON, G. L.; NORDSTEDT, R. A.; FRENCH, E. C.; KIDDER, G.; GRAETZ, D. A.; CHAMBLISS, C. F. **Dairy manure management: strategies for recycling nutrients to recover fertilizer value and avoid environmental pollution**. Grainenville, FL: Florida Coop. Ext. Serv., 1996. 24 p.
- VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminants**. Cornell Univerisity Press: Ithaca, NY, 1994. 476 p.
- VANHORN, H. H.; WILKIE, A. C.; POWERS, W. J.; NORDSTEDT, R. A. Components of dairy manure management-systems. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 7, p. 2008-2030, 1994.
- VANSOEST, P. J.; MASON, V. C. The influence of the maillard reaction upon the nutritive-value of fibrous feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 32, n. 1-3, p. 45-53, 1991.
- VILELA, F. G.; TEIXEIRA, J. C.; PEREZ, J. R. O.; PAIVA, P. C. D.; MUNIZ, J. A.; REIS, S. T. Effect of the substitution of the soybean meal for the starea 150S in the intake, production and composition of the milk. **Ciência E Agrotecnologia**, v. 31, n. 5, p. 1512-1518, 2007.
- VIRTANEN, A. I. Milk production of cows on protein-free feed. **Science**, v. 153, n. 3744, p. 1603-1614, 1966.
- VOLTOLINI, T. V.; SANTOS, F. A. P.; MARTINEZ, J. C.; BITTAR, C. M. M.; IMAIZUMI, H.; CORTINHAS, C. S. Diferentes teores de proteína metabolizável em rações com cana-de-açúcar para vacas em lactação. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 2, p. 309-318, 2008.
- WALLI, T. K.; MUDGAL, V. D. Nitrogen and sulphur balance studies in cattle and bufalloses fed urea-based diet with or without sulphur supplementation. **Indian Journal of Animal Science**, v. 52, n. 11, p. 1019-1023, 1981.
- WALSTRA, P.; JANNES, R. **Dayri chemistry an physics**. New York: Jhon Wiley & Sons, 1984. p. 8-122.
- WEISS, W. P.; CONRAD, H. R.; STPIERRE, N. R. A theoretically-based model for predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. **Animal Feed Science and Technology**, v. 39, n. 1-2, p. 95-110, 1992.
- WITTWER, F.; CONTRERAS, P. A. Consideraciones sobre el empleo de los perfiles metabólicos en ganado lechero. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v. 12, n. 1, p. 180-188, 1980.
- YAN, T.; FROST, J. P.; AGNEW, R. E.; BINNIE, R. C.; MAYNE, C. S. Relationships among manure nitrogen output and dietary and animal factors in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 10, p. 3981-3991, 2006.

ZINN, R. A.; SHEN, Y. An evaluation of ruminally degradable intake protein and metabolizable amino acid requirements of feedlot calves. **Journal of Animal Science**, v. 76, n. 5, p. 1280-1289, 1998.