

ADRIANA AUGUSTO AQUINO

**Efeito de níveis crescentes de uréia na dieta de vacas em lactação
sobre produção, composição e qualidade do leite**

Pirassununga

2005

ADRIANA AUGUSTO AQUINO

**Efeito de níveis crescentes de uréia na dieta de vacas em lactação sobre
produção, composição e qualidade do leite**

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 Medicina Veterinária.

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de Concentração:

Nutrição Animal

Orientador:

Prof. Dr. Marcos Veiga dos Santos

Pirassununga

2005

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

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1604 FMVZ	Aquino, Adriana Augusto Efeito de níveis crescentes de uréia na dieta de vacas em lactação sobre produção, composição e qualidade do leite / Adriana Augusto Aquino – Pirassununga : A. A. Aquino, 2005. 90 f. : il. Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, 2005. Programa de Pós-graduação: Nutrição Animal. Área de concentração: Nutrição Animal. Orientador: Prof. Dr. Marcos Veiga dos Santos. 1. Ureia. 2. Produção de leite. 3. Composição do leite. 4. Caseína. 5. Nitrogênio uréico do leite. I. Título.
----------------	---



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Assistência Acadêmica


Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Efeito de diferentes teores de nitrogênio não protéico na dieta de vacas em lactação sobre composição do leite, caseína e qualidade do queijo", protocolo nº705/2005, utilizando 09 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 "ad referendum".

(We certify that the Research "Effects of different NPN levels in dairy cows dietary on milk composition, casein and milk quality", protocol number 705/2005, utilizing 09 bovines, under the responsibility of Prof. Dr. Marcos Veiga dos Santos, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved "ad referendum", meeting).

São Paulo, 30 de setembro de 2005


Prof.ª Dr.ª Julia Maria Marêa
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: AQUINO, Adriana Augusto

Título: Efeito de níveis crescentes de uréia na dieta de vacas em lactação sobre produção, composição e qualidade do leite

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 Medicina Veterinária.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Aos meus pais Roseli e Vicente por doarem carinho, dedicação e amor por anos a fio, educando-me, sem tolher a liberdade, tão necessária ao desenvolvimento do espírito crítico;

Ao meu irmão Alexandre, pelo companheirismo, pelo apoio e pelas críticas sempre construtivas, que me fazem hoje uma pessoa melhor;

À minha avó Darcy e minha tia Ivette, pela preocupação maternal e amor que pode ser sentido mesmo frente aos quilômetros que nos separam;

Aos meus avós, Waldemar (Augusto), Maria e Waldomiro (Aquino), que em vida torceram por cada novo desafio e comemoraram cada conquista, fossem elas grandes ou pequenas;

Ao meu orientador e amigo, Prof. Dr. Marcos Veiga dos Santos, que além de ser o modelo de pesquisador e docente que procuro seguir, ressaltou-me a importância da amizade, do respeito, da confiança e da cordialidade no trabalho e na vida.

Dedico este trabalho, com amor e gratidão.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Marcos Veiga dos Santos, pelo apoio, pela paciência e dedicação dispensadas, que possibilitaram a geração dos resultados, que hoje, com orgulho, apresento;

A todos os professores do Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP);

À professora Dra. Mirna Lúcia Gigante, pela atenção com que dispensou seu tempo para esclarecer as dúvidas e discutir possibilidades;

À CAPES pela concessão da bolsa de estudo, que gerou tranquilidade e possibilitou a dedicação intensa e exclusiva a este trabalho;

À FAPESP, pelo apoio financeiro, que possibilitou a realização deste trabalho;

Aos funcionários do VNP, em especial às secretárias Cris e Lúcia, que sempre atenciosas e cordiais, cuidaram eficientemente e com esmero de todas as atividades que lhes foram confiadas;

Aos funcionários do Laboratório de Bromatologia, especialmente ao Gilson e ao Ari, pelo auxílio na realização das análises bromatológicas;

Aos funcionários do Laboratório de Tecnologia dos Produtos de Origem Animal, Zeca e Lucinéia, pelos momentos agradáveis que passamos e pela ajuda intensa na condução das análises laboratoriais durante o período experimental;

Aos funcionários do Estábulo Experimental, Everson e Gilmar, pelo cuidado, dedicação e paciência, sem as quais seria impossível a realização deste trabalho;

Aos funcionários da Fábrica de Ração, do Gado de Leite e do Laticínio Escola, pela ajuda efetiva no trato com os animais e no tratamento do leite;

Às minhas colegas de quarto, Ana Louise, Raquel Fernandes e Estela Alves. À Ana, por ensinar-me a importância da tolerância, da cessação e do perdão. À Estela, por auxiliar-me durante as fases mais árduas do período experimental, contribuindo não só com o seu trabalho, mas também com palavras amigas que transmitiram ânimo e renovaram a vontade

de continuar vencendo as barreiras. À Raquel, pela preocupação fraternal e apoio, especialmente na fase final deste trabalho, incentivando a busca pela vitória frente aos desafios impostos recentemente;

À Lílian Namazu, pela amizade forte e sincera, que espero levar comigo e conservar apesar da distância;

Ao Bruno Botaro, por tornar a nossa rotina mais prazerosa, por ser a bênção do samba de Vinícius de Moraes, ressaltando-nos que a alegria é a melhor coisa que existe e por ser um verdadeiro irmão, aconselhando e vivenciando comigo as alegrias e as tristezas dessa jornada. Além disso, devo agradecê-lo pela grande participação nas atividades deste trabalho;

Ao Ygor Lima, pela prestatividade, pela acolhida e pela ajuda prestada durante esses dois anos de árduo trabalho;

À Camilla Silveira, estagiária e amiga, por compartilhar comigo cada momento e por auxiliar intensamente em todas as atividades no laboratório;

Ao Flávio Ikeda e a todos os estagiários por participaram na condução das atividades do experimento;

A todos os colegas de Pós Graduação da FMVZ e da FZEA, em especial, ao Paulo Riquelme, Aline Vaiciunas, Paula Takeara (Paulinha), Waleska, Estela (Estelinha), Milena Souza e Vivian Vargas pelos momentos de harmonia e descontração;

Às antigas e intensas amigas com Luciana Martins, Camila Marsola e Renata Molina que ofereceram o suporte, o carinho e demonstraram a compreensão necessária nesses dois anos;

À amiga e eterna professora Carla Balzano, pela ajuda e torcida constante;

Para as vacas 543, 474, 531, 514,389,536,440,518 e 470... pela existência do experimento;

Para a Mel, pelos momentos de carinho e por reafirmar cada dia a minha vocação;

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho;

A Deus, por todos os acontecimentos, e por todas as pessoas aqui citadas.

Aprendi que o sucesso é conseqüência natural do empenho, da dedicação, da doação e do esforço pessoal, pois essas atitudes permitirão que mostremos o nosso melhor. O segredo é permanecer na busca incessante pelo aprimoramento e evolução. A recompensa será a obtenção de resultados cada vez melhores.

Professor Marcos, obrigada por transmitir-me este ensinamento!

“Algumas das maiores façanhas do mundo foram feitas por pessoas que não eram suficientemente espertas, para saber que elas eram impossíveis.”

Doug Larson

RESUMO

AQUINO, A.A. **Efeito de níveis crescentes de uréia na dieta de vacas em lactação sobre produção, composição e qualidade do leite.** [Effects of dietary urea levels for dairy cows on milk yield, composition and quality]. 2005. 90 f . Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito de níveis crescentes de uréia na dieta de vacas em lactação sobre a produtividade, características físico-químicas e de composição do leite, bem como composição da proteína do leite. Foram utilizadas nove vacas Holandesas em lactação, em delineamento experimental tipo quadrado latino 3X3, com 3 tratamentos, 3 períodos e 3 quadrados. O experimento teve duração total de 63 dias divididos em 3 períodos de 21 dias. Os tratamentos foram: tratamento A (controle) com dieta formulada para suprir 100% das exigências do NRC (2001) em termos de PB, proteína degradável no rúmen (PDR), proteína não degradável no rúmen (PNDR), utilizando farelo de soja como principal fonte protéica e cana-de-açúcar como volumoso; tratamento B, dieta com a inclusão de 0,75% de uréia, em substituição parcial ao farelo de soja, e tratamento C, dieta com inclusão de 1,5% de uréia, em substituição parcial ao farelo de soja. Todas as dietas foram isoenergéticas (1,53 Mcal/kg de energia líquida de lactação) e isoprotéicas (16% de proteína bruta). Não foram observadas diferenças entre os tratamentos, quando os resultados foram analisados por regressão polinomial simples, quanto a: consumo de matéria seca, produção de leite, produção de leite corrigida para 3,5%, produção de proteína, produção de gordura, produção de lactose e produção de sólidos totais e Log CCS. Também não houve influência dos tratamentos sobre pH, crioscopia, densidade e prova de resistência ao álcool. No entanto, a acidez, sofreu efeito linear decrescente ($p = 0,017$) em função dos níveis de uréia na dieta. Quanto à composição do leite, os teores de proteína, gordura, lactose, uréia, extrato seco total e extrato seco desengordurado não foram influenciados pelos tratamentos. A composição da proteína

também não foi alterada pela inclusão de até 1,5% de uréia na dieta, não sendo observada diferença entre os tratamentos para a proteína bruta, proteína verdadeira, caseína, proteína do soro, nitrogênio não caseinoso, nitrogênio não protéico, uréia, bem como as relações proteína verdadeira: proteína bruta e caseína: proteína verdadeira. Estes resultados sugerem que o uso de até 1,5% de uréia na matéria seca da dieta não altera a capacidade de produção, as características físico-químicas e de composição do leite, bem como a composição da proteína do leite.

Palavras-chave: Uréia. Produção de leite. Composição do leite. Caseína. Nitrogênio uréico do leite

ABSTRACT

AQUINO, A.A. **Effects of dietary urea levels for dairy cows on milk yield, composition and quality** [Efeito de níveis crescentes de uréia na dieta de vacas sobre produção, composição e qualidade do leite] 2005. 90 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

The aim of this study was to evaluate the effects of three different dietary levels of urea on milk yield and composition, and milk protein composition. Nine lactating Holstein cows were used in a 3X3 latin square arrangement, with 3 treatments, 3 periods of 21 days each and 3 squares. The treatments were: A) NRC-based (NRC, 2001) diet to provide 100% of crude protein (CP), as well as, rumen undegradable protein (RUP) and rumen degradable protein (RDP) requirements, by using soybean meal and sugar cane; B) 0,75% urea inclusion; partially substituting soya meal from diet C) 1,5% urea inclusion, partially substituting soya meal from diet. Energy and protein levels of treatment diets comply with NRC (2001), and were isoenergetic and isoproteic. No statistical differences were observed among treatments, when results were analyzed by simple polynomial regression in relation to dry-matter intake, milk yield, 3,5% FCM, protein and fat yield, and somatic cell count (Log SCC). Cryoscopy, pH, milk density and alcohol stability, fat, lactose, urea, total solids and solids with no fat were not influenced by treatments. The protein composition, crude protein, true protein, casein, whey protein, non-casein nitrogen, milk urea nitrogen, as well as, true protein:crude protein and casein:true protein ratios were not influenced by the substitution of soybean meal by urea in ration. Results indicate that the use of urea up to 1,5% in DM does not alter milk yield and its composition.

Key words: Urea. Milk yield. Milk composition. Casein. Milk urea nitrogen

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Delineamento em quadrado latino 3x3, composto por 3 quadrados.	51
Tabela 2 - Proporções de ingredientes utilizados e composição bromatológica das dietas, com base na matéria seca.	53
Tabela 3 - Médias, coeficiente de variação (CV) e probabilidade (p) dos efeitos linear (L) e desvio (D) para a consumo de matéria seca (CMS), produção de leite (PL), produção de leite corrigida (LCG 3,5%), concentração de gordura, produção de gordura, concentração de proteína, produção de proteína, peso vivo e Log da contagem células somáticas (Log CCS) em função dos níveis crescentes de uréia.	57
Tabela 4 - Médias, coeficiente de variação (CV) e probabilidade dos efeitos linear (L) e desvio (D) para pH, acidez, crioscopia, densidade e prova de resistência ao álcool em função dos níveis crescentes de uréia.	62
Tabela 5 - Médias, coeficiente de variação (CV) e probabilidade dos efeitos linear (L) e desvio (D) para proteína, gordura, lactose, extrato seco total (EST), extrato seco desengordurado (ESD) e uréia em função dos níveis crescentes de uréia.	63
Tabela 6 - Delineamento em quadrado latino 3x3, composto por 3 quadrados.	76
Tabela 7 - Proporções de ingredientes utilizados e composição bromatológica das dietas, com base na matéria seca.	78
Tabela 8 - Médias, coeficiente de variação (CV) e probabilidade dos efeitos linear (L) e desvio (D) para proteína bruta (%), NNP (%), NNP (%PB), NNC (%), NNC (%PB), PV (%), PV (%PB), caseína (%), caseína (% PB), relação caseína: proteína verdadeira, proteína do soro (%), proteína do soro (%PB) e uréia em função dos níveis crescentes de uréia.	82

LISTA DE ABREVIACOES E NOMENCLATURAS

ADP	Adenosina difosfato
ATP	Adenosina trifosfato
AGV	Ácidos graxos voláteis
EL ₁	Energia líquida de lactação
ESPM	Eficiência da síntese de proteína bacteriana
EUN	Eficiência no uso de nitrogênio
FDA	Fibra detergente ácido
FDN	Fibra detergente neutro
MS	Matéria seca
MOF	Matéria orgânica fermentada
N	Nitrogênio
NH ₃	Amônia
NNC	Nitrogênio não caseinoso
NU	Nitrogênio urinário
NUL	Nitrogênio uréico no leite
NUP	Nitrogênio uréico no plasma
PB	Proteína bruta
PDR	Proteína degradável no rúmen
PNDR	Proteína não degradável no rúmen
PS	Proteínas do soro do leite
PV	Proteína verdadeira do leite

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO	17
1.1 Referências bibliográficas	19
CAPÍTULO 2 - REVISÃO DE LITERATURA	21
2.1 Metabolismo do nitrogênio no rúmen	21
2.2 Uso de nitrogênio não protéico (NNP) na alimentação de vacas leiteiras	27
2.3 Uso de fontes de proteína não degradável (PNDR) no rúmen na alimentação de ruminantes	29
2.4 Nitrogênio uréico do leite e nutrição protéica.....	30
2.5 Composição da proteína do leite e uso de nitrogênio não protéico.....	33
2.6 Referências bibliográficas	38
CAPÍTULO 3 - EFEITO DE NÍVEIS CRESCENTES DE URÉIA NA DIETA DE VACAS EM LACTAÇÃO SOBRE O CONSUMO, PRODUÇÃO, COMPOSIÇÃO E CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE	44
RESUMO	44
ABSTRACT	46
3.1 Introdução	47
3.2 Materiais e métodos	50
3.2.1 Delineamento experimental e seleção das vacas	50
3.2.2 Tratamentos experimentais	51
3.2.3 Coleta de amostras e metodologias de análise.....	54
3.2.4 Análise estatística.....	55
3.3 Resultados e discussão	56
3.3.1 Consumo de alimentos e produção de leite	56
3.3.2 Características físico-químicas e de composição do leite.....	61

3.4 Conclusões	66
3.5 Referências bibliográficas	67
CAPÍTULO 4 - EFEITO DE NÍVEIS CRESCENTES DE URÉIA NA DIETA DE VACAS EM LACTAÇÃO SOBRE A COMPOSIÇÃO DA PROTEÍNA E DA FRAÇÃO NITROGENADA NÃO PROTÉICA DO LEITE	71
RESUMO	71
ABSTRACT	72
4.1 Introdução	73
4.2 Materiais e Métodos	75
4.2.1 Delineamento experimental e seleção das vacas	75
4.2.2- Tratamentos experimentais	76
4.2.3 Coleta de amostras e metodologias de análise	79
4.2.4 Análise estatística	81
4.3 Resultados e discussão	81
4.4 Conclusões	86
4.5 Referências bibliográficas	87
CAPÍTULO 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS	90

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

O uso de fontes não protéicas de nitrogênio para vacas em lactação é bastante comum nos sistemas de produção de leite no Brasil, já que pode ser vantajoso aproveitar o potencial do ruminante em converter essas fontes em aminoácidos essenciais ao metabolismo (LENG; NOLAN, 1984). O princípio básico para alcançar eficiência com o uso dessas fontes é promover o fornecimento adequado de energia, utilizar concentrações menores de proteína, suplementar enxofre, balancear as frações nitrogenadas degradáveis e não degradáveis no rúmen e permitir um período de adaptação (FORBES; FRANCE, 1993; HUBER; KUNG, 1981; SWENSON; REECE, 1996).

O fornecimento adequado de energia adequada permite a transaminação dos aminoácidos que serão diretamente usados para a síntese de proteína microbiana, enquanto a suplementação de enxofre oferece o precursor para a síntese dos aminoácidos sulfurados e o balanço entre as frações garante suprimento para o crescimento dos microorganismos ruminais, além de suprir as necessidades de proteína metabolizável (FORBES; FRANCE, 1993; LUCCI, 1997).

No entanto, embora muitos trabalhos tenham sido realizados para estudar o impacto do uso de fontes de nitrogênio não protéico sobre a produção e composição do leite (BLOCK, 2000; CAMERON, 1991; CARMO et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2001; SILVA, 2001), poucos são os estudos que avaliaram os seus efeitos sobre a qualidade e, mais especificamente sobre a composição da proteína do leite (BAKER et al., 1995; ROSELER et al.; 1993). Normalmente, os resultados são expressos em termos de proteína bruta ($PB = N \times 6,38$), sem a avaliação do conteúdo de proteína verdadeira ($PV = PB - NNP$) e de suas frações: caseína e proteínas do soro.

Com a tendência atual no consumo de proteína em detrimento ao consumo de gordura (MEDEIROS, 2001), que influencia o sistema de pagamento de leite aos produtores em países

como Holanda, França, Austrália, Nova Zelândia e Canadá (IBARRA, 2004), essa informação adquire importância relevante. Embora, no Brasil, o pagamento por qualidade esteja relacionado à concentração de proteína bruta no leite, países como E.U.A e França (BEAUSEJOUR, 2002) já usam o teor de proteína verdadeira como critério. Além disso, devido à importância nutricional e econômica da proteína, existe grande potencial para a implantação desse sistema, especialmente nas indústrias que fabricam queijos, já que a caseína é a principal responsável pelo rendimento de fabricação desses lácteos (EMMONS; DUBÉ; MODLER, 2003).

Os objetivos gerais do presente trabalho foram avaliar o efeito de níveis crescentes de uréia, na alimentação de vacas leiteiras, sobre a produção e composição do leite e da proteína do leite. Os objetivos específicos do estudo foram:

- a) Determinar o efeito da inclusão de níveis crescentes de uréia como fonte de proteína degradável no rúmen (0; 0,75 e 1,5%) na dieta de vacas em lactação sobre a produção (consumo de matéria seca, produção de leite, produção de proteína, produção de gordura, produção de lactose, produção de sólidos totais, contagem de células somáticas), bem como sobre as características físico-químicas (acidez, pH, densidade, crioscopia, prova de resistência ao álcool) e de composição (proteína, gordura, lactose, sólidos totais) do leite.
- b) Determinar o efeito da inclusão de 0%, 0,75% ou 1,5% de uréia na dieta de vacas em meio de lactação sobre a composição da proteína (caseína e proteínas do soro) e da fração nitrogenada não protéica do leite (nitrogênio não protéico e nitrogênio uréico).

1.1 Referências bibliográficas

- BAKER, L.D; FERGUNSON, J.D; CHALUPA, W. Responses in urea and true protein feeding schemes for protein of milk to different dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.78, n. 11, p. 2424-2434, 1995.
- BEAUSEJOUR, M. Payments systems for ex-farm milk. **Bulletin of the International Dairy Federation**, n. 379, 65p, 2002.
- BLOCK, E. Nutrição de vacas leiteiras e composição do leite. In: II Simpósio Internacional sobre Qualidade do leite. P. 85-88, Curitiba, Paraná, 2000.
- CARMO, C.A. Substituição do farelo de soja por uréia ou amiréia em dietas para vacas leiteiras em final de lactação. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, 74p. 2001.
- CAMERON, M.R; KLUSMEYER, T.H; LYNCH, G.L; CLARK, J.H; NELSON, D. R. Effects of urea and starch on rumen fermentation, nutrient passage to the duodenum, and performance of cows. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n.4, p.1321-1336, 1991.
- EMMONS, D.B; DUBÉ, C; MODLER, H.W. Transfer of protein from milk to cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. p. 49-485, 2003.
- FORBES, J.M; FRANCE, J. **Quantitative aspects of ruminat digestion and metabolism**. Oxon: Cab International, 1993. 515p.
- HUBER, J.T; KUNG, L. Jr. Protein and non protein utilization in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 64, p. 1170-1195, 1981.
- IBARRA,A.A. Sistema de pagamento do leite por qualidade-visão global. In: DURR, J.W; CARVALHO, M.P; SANTOS, M.V. **O compromisso com a qualidade do leite no Brasil**. Passo Fundo: UFP, 2004, p.72-86.
- LENG, R.A; NOLAN, J.V. Nitrogen metabolism in the rúmen. **Journal of Dairy Science**, v.67, p. 1072-1089, 1984.
- LUCCI, C.S. **Nutrição e manejo de bovinos leiteiros**. São Paulo: Manole, 1997. 169p.
- MEDEIROS, S.R; GAMA, M.A.S; LANNA, D.P. Influência da nutrição animal na qualidade do leite e de produtos lácteos. In: VILELA, D; MARTINS, C.E; BRESSAN, M; CARVALHO, L.A. (Ed.) **Sustentabilidade da pecuária de leite no Brasil : qualidade e segurança alimentar**. Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, p. 17-38, 2001.
- OLIVEIRA, A.S; VALADARES, R.F.D; VALADARES FILHO, S.C; CECON, P.R; OLIVEIRA, G.A; SILVA, R.M.N; COSTA, M.A.L. Consumo, digestibilidade aparente, produção e composição do leite de vacas alimentadas com quatro níveis de compostos nitrogenados não-protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n.4, p. 1358-1366, 2001.
- 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, p. 525-534, 1993.

SILVA, R.M.N; VALADARES, R.F.D; VALADARES FILHO, S.C; CECON, P.R; CAMPOS, J.M.S; OLIVEIRA, G.A; OLIVEIRA, A.S. Uréia para vacas em lactação. 1. Consumo, digestibilidade, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n.5, p. 1639-1649, 2001.

SWENSON, M.J; REECE, W.O. **Dukes-Fisiologia dos Animais Domésticos**. 11 ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro. 1996, 856 p

CAPÍTULO 2 - REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Metabolismo do nitrogênio no rúmen

Os alimentos consumidos pelos ruminantes são inicialmente expostos à ação dos microorganismos ruminais antes de sofrerem as digestões no abomaso e no intestino. Bactérias e protozoários agem sobre substratos provenientes da dieta, promovendo a fermentação e determinando a performance produtiva do ruminante. A interação entre o animal, os microorganismos, a dieta e os produtos finais da digestão torna complexo o estudo da ecologia e do metabolismo ruminal. No entanto, o conhecimento sobre as interações é fundamental, pois permite a manipulação de estratégias dietéticas, com objetivo de melhorar a eficiência na utilização dos nutrientes (MACKIE; WHITE, 1990).

A seleção da população microbiana do rúmen ocorre sob efeito do pH e do substrato, sendo o crescimento de uma determinada espécie, dependente da combinação ideal desses dois fatores. Normalmente, os organismos selecionados, além de adaptados ao meio, apresentam alta taxa de divisão celular (ORSKOV, 1992).

Podem ser distinguidas no rúmen, três populações de bactérias: aquelas que estão no fluido ruminal, as que aderem as partículas do alimento e as morfológicamente distintas que se aderem à parede ruminal. Este último grupo, age sobre as células epiteliais mortas produzindo proteína microbiana e amônia e contribuem com mais de 10% da atividade de protease e de urease no fluido ruminal (LENG; NOLAN, 1984). Algumas espécies de bactérias ruminais tais como *Bacteroides succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminococcus albus*, *Bacteroides amylophilus*, *Methanobacterium ruminatum* e *Eubacterium ruminatum*, dependem da amônia para o seu crescimento, mesmo quando há presença de proteína verdadeira (FORBES; FRANCE, 1993; HUNGATE, 1966).

Já os protozoários, genericamente podem ser classificados em dois grandes grupos: os ciliados, ou *Holotrichia*, onde estão compreendidos os gêneros *Isotrichia* e *Dasytrichia*, e os entodiniomorfos (*Entodinia*). Normalmente, são selecionados pelo pH da dieta estando presentes em menor quantidade quando a dieta é composta por grande proporção de grãos, provavelmente porque esta gera um ambiente ruminal mais ácido. Os protozoários, além de realizarem a predação da população bacteriana, utilizando os aminoácidos das bactérias para a síntese de suas proteínas, competem por substratos, o que influi no fluxo de nitrogênio no organismo do ruminante (SWENSON; REECE, 1996). Em situações experimentais, a defaunação resulta em maior eficiência na síntese e no fluxo de proteína microbiana (KOENIG et al., 2000). Isto porque, há redução na degradação da proteína, deixando grande parte da proteína dietética livre para sofrer digestão no intestino (SWENSON; REECE, 1996).

Assim, conhecer a população microbiana e as interações entre elas é importante para entender o metabolismo do N (nitrogênio) no rúmen. A estrutura da proteína é fator chave em seu metabolismo no rúmen, pois determina a susceptibilidade às proteases microbianas e por conseqüência, a sua degradabilidade (BACH; CALSAMIGLIA; STERN, 2005). Por sua vez, a degradabilidade da proteína dietética, assim como a absorção dos peptídeos e da amônia resultantes, são fatores determinantes na eficiência de utilização do nitrogênio, e dessa forma, na quantidade de proteína microbiana e proteína *bypass* que estarão disponíveis para o animal (MACKIE; WHITE, 1990).

O nitrogênio dietético pode ser classificado em dois grupos: aquele proveniente das proteínas e o nitrogênio de origem não protéica. A proteína alimentar é dividida em 2 frações, considerando a sua degradabilidade ruminal. A fração degradável no rúmen é convertida a amônia e utilizada para a síntese de proteína microbiana. Já fração não degradável no rúmen, incólume às proteases e peptídeos microbianas, passa diretamente ao intestino delgado para sofrer a digestão intestinal (NRC, 1985). Dessa forma, a proteína dietética disponível para a

absorção no intestino é resultado do somatório da proteína microbiana e da proteína *bypass* (FERGUSON; CHALUPA, 1989). Com isso, dois são os objetivos da formulação de dietas com base nas exigências protéicas para vacas em lactação: atender as necessidades dos microorganismos ruminais e suprir às exigências de proteína metabolizável (KALSCHEUR et al., 1999).

Por sua vez, o nitrogênio não protéico (NNP) é constituído por aminas, amidas, aminoácidos, nitratos, uréia e sais de amônio. Anteriormente, acreditava-se que a concentração de NNP numa dieta era diretamente relacionada com a suplementação de uréia, sais de amônio, etc. No entanto, sabe-se que certos alimentos, como as silagens, apresentam teores consideráveis de nitrogênio não protéico, sendo necessário computar essa porcentagem na formulação das dietas (HUBER; KUNG, 1981). De qualquer forma, o N dietético, o nitrogênio salivar e possivelmente uma pequena porção de uréia que entra no rúmen via parede ruminal são convertidos quase que totalmente a amônia (SATTER; ROFFLER, 1975).

Diversos fatores influem na utilização do nitrogênio pelo ruminante, entre eles a relação proteína:energia, a concentração de nitrogênio na dieta, suplementação de enxofre e, adaptação. As variações nas fontes de proteína e conteúdo de energia dos alimentos têm grande influência na síntese de proteína microbiana e na fração das proteínas que passa incólume para os intestinos. Estes fatores também alteram o perfil de aminoácidos da digestão no duodeno, influenciando a produção de leite e fertilidade (WESTWOOD et al., 1998).

Helmer et al. (1970) demonstraram uma relação positiva entre a conversão de fontes de nitrogênio à amônia e magnitude da digestão da celulose e do amido, ressaltando a importância da amônia na digestão de carboidratos estruturais e não estruturais no rúmen. Dentre os carboidratos, o amido parece ser a melhor fonte de energia na conversão de amônia em proteína pelos microorganismos ruminais, porque a taxa de liberação da energia de amido cozido, é mais próxima à taxa de liberação de amônia a partir de compostos como a uréia,

que possui uma rápida hidrólise em ambiente ruminal. A combinação destas fontes de energia e proteína pode aumentar a eficiência de utilização da amônia liberada, resultando em maior produção de proteína microbiana.

A fermentação de uma grande quantidade de carboidratos, ultrapassando a degradação da proteína, reduz o crescimento microbiano e a eficiência digestiva. Isso porque, a deficiência em N levará a um desvio do ATP (adenosina trifosfato) para acúmulo de carboidrato e não para a síntese de proteína microbiana (NOCEK; RUSSEL, 1988; CLARK et al., 1992). Dessa forma, a utilização sincronizada de proteína e carboidratos da dieta é necessária para um ótimo crescimento microbiano e síntese protéica (RUSSEL; HESPELL, 1981), beneficiando a digestibilidade ruminal (HERRERA-SALDANA; HUBER, 1989; CLARK et al., 1992), a eficiência na utilização de proteína e energia, assim como a produção de leite (HERRERA-SALDANA; HUBER, 1989; HOOVER; STOCKES, 1991).

Ao avaliar três níveis de proteína (15,1%; 16,7% ; 18,4%) e Fibra Detergente Neutro (36%, 32% ; 28%), com o objetivo de identificar as concentrações ótimas de proteína bruta e energia na dieta de vacas, Broderick (2003) observou que embora maiores concentrações de proteína bruta na dieta tenham promovido aumento do consumo de matéria seca, da produção de leite, de proteína e de gordura, geraram também concentrações maiores de NNP (nitrogênio não protéico), NUL (nitrogênio uréico no leite) e NU (nitrogênio urinário), resultando em diminuição na eficiência da utilização do nitrogênio. O aumento da concentração energética pela diminuição do conteúdo de FDN, diminuiu o ganho de peso, a produção de leite e dos componentes do leite (exceto a gordura), bem a excreção do nitrogênio urinário. Por outro lado, a secreção de NUL foi aumentada diante das concentrações mais elevadas de energia. Assim, concluiu-se que independentemente da concentração energética, 16,7% de PB na dieta é uma quantidade suficiente para suportar a

produção e, que concentrações protéicas inferiores à exigência levam a uma efetiva redução na excreção do nitrogênio para o ambiente.

Quanto à quantidade de proteína, nas últimas décadas a recomendação tem sido reavaliada devido ao aumento na produção de leite e na variedade de métodos de alimentação disponíveis. Os resultados de pesquisas são conflitantes, particularmente em relação à necessidade de proteína para vacas de alta produção durante o início de lactação (CLAYPOOL et al. 1980). Estes conflitos são acentuados quando se avalia a necessidade nutricional de vacas de alta produção preconizado nos últimos três boletins de exigências nutricionais do NRC (National Research Council). Segundo o NRC (1979), a necessidade de proteína bruta (PB) para uma vaca de alta produção (30 a 50 litros/dia) varia entre 14 a 22% da MS da dieta. Já a edição de 1989 sugere 17 a 19% de PB na MS da ração para vacas em início de lactação, enquanto que a edição de 2001 recomenda entre 17,4 e 23,1%.

A exigência de amônia está relacionada à disponibilidade do substrato, à taxa de fermentação, à massa microbiana e a produção do animal (NRC, 1989). Em dietas com baixo teor de proteína, o conteúdo ingerido de nitrogênio é o principal fator limitante da taxa de fermentação ruminal, assim como, da taxa de passagem dos alimentos pelo trato digestivo. O efeito do aumento da ingestão pelo aumento do teor de nitrogênio na dieta é atribuído a fermentação e taxa de passagem superiores (OWENS; ZINN, 1993).

O perfil de aminoácidos da proteína também é importante na nutrição de gado leiteiro. Esse conceito, forte na nutrição de animais monogástricos, passou a ter força significativa na avaliação da nutrição de animais de alta produção e em início de lactação. Alguns aminoácidos como a fenilalanina, a leucina e a isoleucina são sintetizados pelo rúmen, com maior dificuldade do que outros aminoácidos (BACH, CALSAMIGLIA; STERN, 2005). Bach et al. (2000) ao estudarem os efeitos da concentração de proteína bruta (18% e 15%) e o perfil aminoacídico da proteína (alta ou baixa qualidade) em dietas isoenergéticas (1,75 Mcal

EM/kg), sobre a produção de leite de vacas em início de lactação, verificaram que os animais são menos susceptíveis à variação na concentração de proteína do que na mudança do perfil de aminoácidos da dieta.

Os aminoácidos limitantes para vacas em lactação são lisina e metionina (Bach et al., 2000), o que justifica a suplementação de enxofre, quando se usa fontes de nitrogênio não protéico na dieta. Recomenda-se uma relação N:S de 10:1 (LUCCI, 1997).

Quando fontes de nitrogênio não protéico são utilizadas, torna-se necessário um período de adaptação, para evitar a ocorrência de distúrbios metabólicos causados por intermediários do metabolismo da uréia. Wilson et al. (1975) verificaram que independentemente da forma de administração, há redução no consumo em dietas que contenham mais que 1% de uréia na matéria seca.

Devido aos vários fatores que influem no metabolismo do nitrogênio no rúmen, duas mensurações são normalmente usadas para determinar a sua eficiência. A medida mais comum é a eficiência da síntese de proteína microbiana (ESPM), expressa em gramas de nitrogênio microbiano por unidade de energia disponível no rúmen (matéria orgânica ou carboidratos fermentados). Esta, apesar de oferecer informações sobre o uso da energia, não permite avaliar a eficiência na captação do nitrogênio disponível no rúmen. A eficiência no uso de nitrogênio (EUN) é uma medida que complementa a anterior, oferecendo informações mais específicas sobre o metabolismo do nitrogênio. A combinação das duas informações permite dizer que o crescimento bacteriano ótimo ocorre quando a ESPM é 29 g NB/kg MOF e a EUN é cerca de 69%, o que leva a conclusão de que a bactéria requer 1,31 vezes a quantidade de N disponível no rúmen por unidade de N bacteriano (BACH; CALSAMIGLIA; STERN, 2005).

2.2 Uso de nitrogênio não protéico (NNP) na alimentação de vacas leiteiras

A alimentação é o fator responsável pelos maiores custos de produção de uma propriedade leiteira (PERES, 2001). Por isso, a busca por estratégias que diminuam os gastos sem interferir negativamente na produção são freqüentes. A utilização de fontes de nitrogênio não protéico, dentre as quais a forma mais comum é a uréia, é uma das alternativas viáveis para o alcance desses objetivos (EZEQUIEL et al., 2001; SANTOS et al., 1998).

Duas podem ser as fontes de uréia para a utilização pelo ruminante: exógena e endógena. A uréia exógena é um composto quaternário constituído por nitrogênio, oxigênio, carbono e hidrogênio, $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$, (NELSON; COX, 2000), que possui um equivalente protéico de 281% e, é produzida sinteticamente através da combinação de gás carbônico e amônia em condições de elevada temperatura (195 °C) e pressão (240 kg/cm²).

No entanto, a uréia pode ser sintetizada pelo fígado a partir do ciclo da uréia. Este ciclo é composto por cinco enzimas (carbamil fosfato sintetase-I, ornitina transcarbamilase, argininosuccinato sintetase, argininosuccinato-liase e arginase), mas uma série de outras proteínas como glutaminase hepática, N-acetilglutamato sintetase, transportadoras mitocondriais de ornitina/citrulina e transportadoras mitocondriais de aspartato/glutamato são necessárias para o adequado funcionamento do ciclo (MORRIS, 2002).

A amônia absorvida pelo epitélio ruminal ao chegar ao fígado pela veia porta reage com o gás carbônico (CO_2) e forma o carbamil fosfato, a partir da ação da enzima carbamil fosfato quinase. Os geradores primários de íons amônio mitocondriais são a glutamato-desidrogenase e a glutaminase. A carbamil fosfato sintetase I requer N-acetilglutamato para sua atividade. O N-acetilglutamato é sintetizado em quantidades maiores quando estão presentes quantidades mais elevadas de aminoácidos, fornecendo assim um sinal para iniciar a síntese de uréia durante o excesso de aminoácidos. O grupo carbamil é transferido do carbamil fosfato para a ornitina, formando a citrulina, numa reação catalisada pela ornitina-

transcarbamilase nas mitocôndrias. Após o transporte da citrulina ao citossol, a arginino-succinato sintetase catalisa a condensação do aspartato com a citrulina para produzir a argininossuccinato. Esta síntese é regida pela clivagem do ATP em ADP (adenosina difosfato) e pirofosfato inorgânico (PPi) e pela subsequente hidrólise de PPi em dois Pi. A argininosuccinase rompe então o argininossuccinato em fumarato e arginina. Esta última é rompida hidroliticamente pela arginase para formar uréia e ornitina, completando o ciclo. (SWENSON; REECE, 1996).

A atividade ureásica é alta na parede ruminal:limite do fluido e no material sobrenadante do saco ruminal dorsal, degradando rapidamente a uréia a amônia. Esta é um importante substrato para a síntese de proteína microbiana, estando sujeita a quantidades adequadas de α -cetoglutarato (para aaminação do glutamato) e AGV (ácidos graxos voláteis) adequados (incluindo os isoácidos) disponíveis para fornecer os esqueletos de carbono sobre os quais os aminogrupos podem ser adicionados, pela transaminação do glutamato (SWENSON; REECE, 1996). A concentração de amônia ruminal é uma forma de avaliar o balanço entre a proteína alimentar e as frações de NNP, a hidrólise da uréia reciclada e a degradação do protoplasma microbiano, já que estas são as fontes de amônia disponíveis. Da mesma forma, permite avaliar a saída de amônia ruminal, seja a partir da utilização pelos microorganismos, através da absorção da parede ruminal ou passagem para o omaso (OWENS; BERGER, 1983). Duas formas de amônia são produzidas a partir da ação da urease bacteriana: uma forma ionizada (NH_4) e a não ionizada (NH_3), sendo ambas um eletrólito fraco. O equilíbrio entre essas duas frações é mantido a partir da manutenção da concentração da temperatura e de pH. Quando, há variações no pH acima de 7, por exemplo, há um aumento na concentração da forma não ionizada, para a qual as membranas celulares são extremamente permeáveis, tornando maiores os riscos de intoxicação (VISEK, 1984).

A principal medida a ser tomada quando se inicia o uso da uréia na alimentação de ruminantes é a adaptação. Os animais adaptados à uréia têm redução na taxa de hidrólise da uréia, seja por inibição (NH_4) ou ainda por mecanismos das próprias espécies de microorganismos (OWENS; ZINN, 1993).

Diversos trabalhos vêm sendo desenvolvidos para estudar o efeito do uso de uréia na dieta de vacas em lactação sobre as características de produção e de composição do leite. Imaizumi (2000) verificou que a uréia (1,3% da MS) associada ao farelo de soja, foi tão eficiente quanto o farelo de soja em suprir aminoácidos à glândula mamária de vacas em final de lactação produzindo entre 12 e 13 kg de leite/dia. Também ao avaliar a dieta de vacas em final de lactação, Carmo (2001) não observou efeito significativo do uso de 2% de uréia na matéria seca da dieta sobre as características de produção e composição do leite. Por outro lado, Silva et al., (2001) e Oliveira et al. (2001) verificaram diminuição linear no consumo de alimentos e na produção de leite de vacas Girolandas e Holandesas, respectivamente ao utilizarem níveis crescentes de uréia na dieta de vacas (0%, 0,70%, 1,4% e 2,1%)

2.3 Uso de fontes de proteína não degradável (PNDR) no rúmen na alimentação de ruminantes

Com o objetivo de aumentar a quantidade de proteína que escapa a fermentação ruminal e promover um aporte maior de aminoácidos utiliza-se, como estratégia, a suplementação de PNDR. Nesse caso, o fornecimento de elevadas quantidades de PNDR seria justificado pelo fato das vacas em lactação necessitarem de quantidades de proteínas superiores às aquelas fornecidas pelo suprimento de proteína bacteriana (SUTTON, 1985). Este fato é confirmado por CHALUPA e SNIFFEN (1991) ao afirmarem que as bactérias e os protozoários não produzem proteína suficiente para a máxima produção de leite e que se faz necessário que algumas proteínas da dieta escapem à degradação ruminal e passem para o intestino delgado para suprir quantidades adequadas de aminoácidos e por FERGUSON e

CHALUPA (1989) ao afirmarem que suprir quantidades adequadas de proteína absorvível requer aumento na ingestão PNDR na ração, quer com emprego de determinadas fontes protéicas, quer aumentando a proteína bruta (PB) total.

No entanto, maiores percentagens de PNDR fornecidas visando aumentar a quantidade de proteína total e a porção que alcançam diretamente os intestinos nem sempre aumentam a produção de leite (VOSS et al., 1988 e SANTOS et al., 2001). Este relacionamento negativo entre ingestão de PB e produção pode ser explicado através do gasto energético associado à transformação do excesso de amônia em uréia pelo fígado, contribuindo para menor disponibilidade de energia para a produção de leite. Estima-se que a conversão de amônia em uréia no fígado tenha custo para o animal de 12 Kcal/g de excesso de nitrogênio excretado (VAN SOEST, 1994).

O teor de PB da dieta e a forma como esta é fornecida podem alterar sensivelmente a concentração de amônia ruminal e conseqüentemente o nível de nitrogênio na forma de uréia no sangue e no leite. Isto ocorre porque a uréia do soro e do leite derivam da amônia absorvida através da parede ruminal (convertida em uréia no fígado) ou são provenientes do metabolismo da proteína absorvida pelos intestinos. A uréia pode também ser produzida quando a proteína do tecido corporal ou aminoácidos absorvidos pelos intestinos são catabolizados para a gliconeogênese (MOORE e VARGA, 1996). GARCIA-BOJALIL et al. (1994) relataram maiores valores de pH ruminal quando os animais foram alimentados com elevados níveis de proteína na dieta (27,4%).

2.4 Nitrogênio uréico do leite (NUL) e nutrição protéica

Atualmente, existe grande interesse no uso da concentração de NUL como parâmetro para avaliação nutricional do rebanho, especialmente quanto à nutrição protéica. Isto porque, o NUL está correlacionado diretamente com os níveis de uréia presentes no plasma e no sangue (DEPETERS; FERGUSON, 1992). No entanto, para usar os valores de NUL com

segurança é necessário conhecer os fatores nutricionais e não nutricionais que influem em sua concentração.

Quanto à nutrição, diversos fatores podem influir no aumento de NUP (nitrogênio uréico no plasma) e por consequência no NUL: aumento da ingestão de proteína; aumento da proporção de PDR, já que resultaria em maior proporção de proteína dietética sendo convertida em amônia; diminuição na ingestão de energia disponível para síntese de proteína microbiana, aumentando a saída de amônia pela parede ruminal; aumento do pH ruminal levando a aumento de NH_3 , o qual atravessa a parede ruminal com maior velocidade que NH_4 ; aumento do catabolismo e ou falência renal (NRC,1989).

Os níveis de proteína da dieta e os conteúdos de PDR e FDN estão positivamente correlacionados à sua concentração (HOJMAN et al., 2004). BRODERICK (2003) ao utilizar três concentrações de PB e FDN na dieta, encontrou efeito linear positivo sobre a concentração de NUL e a excreção de N urinário em função do aumento dos teores de PB, com diminuição da eficiência de utilização de nitrogênio. Já a diminuição do teor de FDN levou ao aumento nas porcentagens de proteína total e de proteína verdadeira do leite, com diminuição dos valores de NUL. A concentração de proteína na dieta é um dos fatores que mais afetam o NUL (NOUSIAINEN et al., 2004) e pode ser utilizada para avaliação do balanço de PDR (SCHEPERS e MEIJER, 1998), permitindo mensurar as perdas de nitrogênio da fermentação ruminal. No entanto, o NUL tem a limitação de não permitir a avaliação da utilização da proteína absorvida (HOF et al., 1997).

Por outro lado, a energia da dieta e a concentração de carboidratos não estruturais estão negativamente relacionadas à concentração de NUL (HOJMAN et al., 2004). Segundo o NRC (1989), as dietas com quantidade inadequada de energia podem ocasionar excesso de amônia ruminal, desencadeando aumento da concentração de N uréico plasmático associado à redução na concentração de proteína no leite.

Excesso de PB ou desbalanço das frações degradáveis e não degradáveis no rúmen podem elevar o NUL e indicar suprimento exagerado de N para os microorganismos ruminais, tecidos ou ambos. Concentrações elevadas de uréia no fluido ruminal de vacas leiteiras reduzem a eficiência metabólica de produção de leite, com impactos negativos na saúde e reprodução, segundo BAKER et al. (1995), que estudaram sessenta rebanhos comerciais de vacas holandesas durante 13 meses. Foram avaliados NUL, produção e composição do leite além do manejo nutricional. Rebanhos com concentrações elevadas de NUL tiveram tendência a apresentarem menor produção de leite não corrigido/vaca/dia ($p < 0,057$), no entanto, esta tendência desaparece quando se avalia a produção de leite corrigido para gordura e proteína total. Os resultados sugerem que vacas podem ser alimentadas para atingirem elevadas produções sem, com isso atingirem concentrações elevadas de NUL (GODDEN et al., 2001).

Faust e Kilmer (1996) não encontraram nenhum relacionamento importante entre NUL e concentrações lácteas de gordura, lactose, proteína, sólidos isentos de gordura e sólidos totais. Estes resultados são divergentes dos citados por HOJMAN et al. (2004) que encontraram uma associação positiva do NUL com porcentagem de gordura e associação negativa com a concentração de proteína total. Entretanto, os autores supracitados concordam que a concentração de NUL é menor em amostras onde a contagem de células somáticas (CCS) são maiores. Estas respostas são semelhantes às de HARMEYER e MARTENS (1980), os quais encontraram menores concentrações de uréia em quartos com elevada CCS e divergentes de EICHER et al. (1999), que colheram amostras compostas e individuais de cada teto nas duas ordenhas. Estes autores não observaram diferenças entre amostras totais e individuais, entre tetos, ou entre amostras colhidas de manhã e à tarde. A CCS não alterou a concentração do NUL e a concentração de uréia.

De acordo com HOJMAN et al. (2005), dentre os fatores não nutricionais que influem na concentração de NUL podemos citar: produção de leite, estação do ano e número de lactações. A produção de leite, a primavera, o início do verão e vacas multíparas apresentam uma associação positiva com as concentrações de NUL, enquanto o inverno e vacas jovens apresentam correlação negativa. O peso vivo também é uma variável importante, havendo interação entre este e o número de lactações. Isto mostra que a relação entre NUL e peso vivo é diferente de acordo com o número de lactações da vaca. Diferentemente de Hojman et al. (2004) e Rajala-Schultz e Saville (2003), o consumo de matéria seca não interferiu nas concentrações de NUL. Segundo o autor, isto pode ser explicado pelo confundimento da variável CMS com o peso vivo do animal.

Broderick e Clayton (1997), ao estudarem a relação entre as concentrações de N uréico no leite e no plasma assim como, a capacidade da utilização da concentração de N uréico no leite (NUL) em demonstrar o perfil protéico dos animais, identificaram que o teor de PB da dieta, relação PB:EL_L (Mcal), consumo excessivo de N e concentração de amônia ruminal são fatores de relevância.

2.5 Composição da proteína do leite e uso de nitrogênio não protéico

As proteínas do leite podem ser classificadas em dois grandes grupos: as caseínas e as proteínas do soro. A caseína pode ser definida como a fração da proteína do leite que sofre precipitação em pH = 4,6; enquanto que o restante das proteínas que não sofreram esta precipitação é chamado coletivamente de proteínas do soro (FARRELL et al., 2004). A caseína é sintetizada nas células epiteliais da glândula mamária, consistindo de 4 principais classes: α_1 -, α_2 -, β - e κ -caseína. Este grupo de proteínas compõe aproximadamente 80% do total de proteínas do leite, o que resulta em concentração média de 24-28 mg/mL (FARRELL et al., 2004). As concentrações das diversas frações da caseína do leite, α_1 -, α_2 -, β - e κ -

caseína, são de aproximadamente, 12-15, 3-4, 9-11, e 3-4 mg/mL, respectivamente (FARRELL et al., 2004). As caseínas são particularmente importantes na fabricação de derivados lácteos, sendo fator determinante no rendimento de fabricação de queijos (EMMONS; DUBÉ; MODLER, 2003).

Dentre as quatro principais proteínas do soro, duas são sintetizadas na glândula mamária (β -lactoglobulina e a α -lactalbumina), enquanto as outras duas têm origem sanguínea (albumina sérica e imunoglobulinas). Outras proteínas do soro incluem a lactoferrina, transferrina e enzimas (plasmina, LLP, fosfatase alcalina). No leite normal, a β -lactoglobulina é a proteína do soro de maior concentração (2-4 mg/mL), seguida pela α -lactalbumina (1-1,5 mg/mL), enquanto que a albumina sérica e as imunoglobulinas apresentam, respectivamente, as seguintes concentrações: 0,1-0,4 e 0,6-1,0 mg/mL (FARRELL et al., 2004).

O leite apresenta, além das proteínas e peptídeos, uma fração de compostos nitrogenados não-protéicos (NNP), que pode perfazer aproximadamente 5% do total de nitrogênio do leite, de acordo com WALSTRA e JENNESS (1984). Estes compostos são principalmente de origem do sangue, incluindo principalmente substâncias como a uréia, a creatina e a creatinina. De acordo com DePETERS e CANT (1992), a maior porção do NNP é nitrogênio na forma de uréia (48%), o qual entra livremente na glândula mamária por difusão para equilibrar sua concentração com a do plasma sanguíneo.

Sob o ponto de vista nutricional, é importante destacar que fontes de nitrogênio da dieta podem alterar a composição da proteína do leite e tem sido prática comum, o uso de fontes de proteína de baixa degradabilidade ruminal com o objetivo de elevar as concentrações de proteína láctea. Essa elevação poderia ser fisiologicamente explicada pelo fato de que o escape da fermentação ruminal (pela composição de aminoácidos da fonte de proteína) levaria ao aumento da concentração de proteína para ser absorvida no duodeno (SANTOS e HUBER, 1996).

Por outro lado, alguns estudos avaliaram o uso de nitrogênio não protéico e de fontes de proteína com diversas taxas de degradabilidade ruminal na composição química do leite. BRODERICK et al. (1993), ao compararem o uso de uréia e proteína verdadeira (PV) como suplemento para vacas lactantes alimentadas com dietas a base de alfafa, silagem de milho e grão de milho encontraram que a concentração de amônia ruminal e o nitrogênio uréico do leite são mais baixos de acordo com a diminuição da degradabilidade das dietas.

BLOCK (2000) destaca o fato de que aumentos na proteína total do leite podem ocorrer devido a estratégias nutricionais que aumentam o teor de NNP. No entanto, esta estratégia não apresentaria benefícios em termos de rendimentos industriais do queijo, já que a obtenção deste derivado lácteo depende de alterações na concentração de caseína do leite. Já OLIVEIRA et al. (2001), avaliando o consumo, digestibilidade aparente, produção e composição do leite de vacas alimentadas com 4 diferentes níveis de uréia, concluíram que a adição de níveis crescentes de NNP em substituição à PV reduziu o consumo de alimentos, sendo que o teor e produção de proteína sofreram diminuição linear com o aumento da uréia na dieta.

Alguns estudos avaliaram o uso de nitrogênio não protéico e fontes de proteína de diferentes degradabilidades na composição do leite, incluindo a concentração de proteína láctea, mas poucos descreveram o uso dessas fontes e seu impacto sobre a composição da proteína do leite. BAKER et al. (1995) estudaram os efeitos da concentração, degradabilidade e qualidade da proteína da dieta sobre a concentração de proteína do leite. Os resultados demonstraram que a concentração de PV do leite foi influenciada pelo suprimento de PDR, sendo que as dietas deficientes em PDR apresentaram menor concentração de PV. ROSELER et al. (1993) ao estudarem o efeito de dietas com diferentes degradabilidades sobre as concentrações de NNP e NUL do leite de vaca verificaram que a ingestão de dietas ricas em PNDR eleva os níveis de nitrogênio uréico no plasma e no leite. Além disso, o estudo

apontou que a produção de proteína verdadeira foi positivamente correlacionada a produção de leite, a ingestão de proteína não degradável e a ingestão de energia líquida.

De forma semelhante, DePETERS e PALMQUIST (1990) ao utilizarem farinha de peixe como fonte de proteína não degradável (rica em lisina e metionina) para vacas em lactação, obtiveram aumento na concentração da proteína verdadeira do leite, incluindo elevação na caseína.

WINSRYG et al. (1991) utilizaram vacas em lactação e tratadas com somatotropina para estudar o efeito da degradabilidade de diversas fontes de proteína na produção e composição de leite. Os animais do grupo controle receberam dietas a base de farelo de soja, enquanto o grupo tratamento foi alimentado com glúten de milho e farinha de carne e ossos, como fonte de proteína não degradável constituindo 33% de PNDR na proteína total. Os pesquisadores concluíram que o aumento da ingestão de PNDR aumentou significativamente a concentração de proteína total e a percentagem de caseína do leite (3,14% x 2,86% de proteína total e 62,11% x 58,24% de caseína) para grupos tratamento e controle, respectivamente.

Por outro lado BATEMAN et al. (1999), avaliando fontes protéicas ricas em PNDR em comparação com farelo de soja e uréia em associação com aminoácidos protegidos em dietas baseadas em feno de alfafa, concluíram que a fonte da proteína não alterou a produção e o teor de caseína de leite. CARMO et al. (2001) destacam que para vacas em final de lactação, a suplementação de teores elevados de NNP (2% de uréia) na MS da dieta, em substituição parcial ao farelo de soja pode ser realizada sem comprometimento do desempenho animal, uma vez que não foram observadas alterações na produção e no teor de PB do leite.

Em uma série de experimentos realizados na França, estudaram-se os fatores que contribuem para a variação na proporção de caseína como parte da proteína verdadeira do

leite de vacas. Além da variante genética e da concentração de células somáticas, fatores dietéticos como nível e tipo da fonte de nitrogênio foram estudados. Concluiu-se que a suplementação com proteínas com melhor balanço de aminoácidos (farelo de soja x glúten de milho e farinha de peixe x farelo de soja) melhoraram significativamente a relação caseína:proteína total. Por outro lado, a suplementação ruminal de lisina e metionina aumentou as concentrações de proteína do leite, mas não elevou as concentrações de caseína (COULON, 1998).

Trabalhos de pesquisa correlacionando fonte de proteína e a composição protéica do leite também vêm sendo desenvolvidos em caprinos. SAMPELAYO et al. (1999) descreveram que a proteína rapidamente degradável no rúmen é a fração mais particularmente associada à produção de proteína do leite e, mais particularmente às suas frações de caseína (alfa e beta), independentemente da composição de aminoácidos da proteína dietética.

Em um outro estudo, SAMPELAYO et al. (1998) ao estudarem a influência de quatro diferentes fontes de proteína (grãos, caroço de algodão, glúten de milho e farelo de soja), sobre a produção, concentração e composição da proteína láctea, observaram que o leite das cabras recebendo dietas a base de glúten de milho alcançaram as maiores concentrações de proteína e de caseína, estando a fração β presente em maior quantidade.

2.6 Referências bibliográficas

BACH, A; CALSAMIGLIA, S; STERN, M.D. Nitrogen metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.88, p. 9-21, 2005. Supplementum E.

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; FERGUNSON, J.D; CHALUPA, W. Responses in urea and true protein feeding schemes for protein of milk to different dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.78, n. 11, p. 2424-2434, 1995.

BATEMAN, 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 Dairy Science** 82:2115-2120, 1999.

BLOCK, E. Nutrição de vacas leiteiras e composição do leite. In: II Simpósio Internacional sobre Qualidade do Leite. p. 85-88, Curitiba, PR, 2000.

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. 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, p. 2266-2274, 1993.

CARMO, C.A. **Substituição do farelo de soja por uréia ou amiréia em dietas para vacas leiteiras em final de lactação.** Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, 74 p. 2001.

CHALUPA, W.; SNIFFEN, C. Protein and amino acid nutrition of lactating dairy cattle. **Veterinary Clinics Northest American: Feed Animal Practice.**, v. 7, p.353-372, 1991.

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

CLAYPOOL, D.W; PANGBORN, M.C; ADAMS, H.P. Effects of dietary on high producing dairy cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v.63, p. 833-837, 1980.

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.

DEPETERS, E.J; CANT, J.P. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: A review. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 2043- 2070, 1992.

DEPETERS. E.J; FERGUNSON, J.D. Nonprotein nitrogen and protein distribution in the milk of cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 3192-3209, 1992.

DEPETERS, E.J ; PALMQUIST, D.L. Effect of fish meal and calcium salts of long chain fatty acids on the nitrogen content of milk. **Journal Dairy Science.**, v.73, p. 242, 1990.

EICHER R, BOUCHARD E, TREMBLAY A. Cow level sampling factors affecting analysis and interpretation of milk urea concentrations in 2 dairy herds. **Canadian Veterinary Journal**, v. 40, p. 487 – 492, 1999.

EMMONS, D.B; DUBÉ, C; MODLER, H.W. Transfer of protein from milk to cheese. **Journal of Dairy Science.**, v.86, p. 469-485, 2003.

EZEQUIEL, J.M.B; MATARAZZO, S.V; SALMAN, A.K.D; JUNIOR, A.P.M; SOARES, W.V.B; SEIXAS, J.R.C. **Digestibilidade aparente da energia e da fibra de dietas para ovinos contendo uréia, amiréia ou farelo de algodão.** Revista Brasileira de Zootecnia, v.30; n. 1; p. 231-235, 2001.

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, p. 1641-1674, 2004.

FAUST, M. A.; KILMER, L. H. Determining variability of milk urea nitrogen reported by commercial testing laboratories. **Dairy Report – Iowa State University.**, 1996.

FERGUNSON, J.D; CHALUPA, W. Impact of protein nutrition on reproduction in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, p. 746-766, 1989.

FORBES, J.M; FRANCE, J. **Quantitative aspects of ruminat digestion and metabolism.** Oxon: Cab International, 1993. 515p.

GARCIA-BOJALIL, C.M.; STAPLES, C.R.; THATCHER, W.W; DROST, M. Protein intake and development of ovarian follicles and embryos of superovulated nonlactating dairy cows. **Journal of Dairy Science** v. 77, n. 9, p. 2537–2548, 1994.

GODDEN, S.M; LISSEMORE, K.D; KELTON, D.F; LESLIE, K.E; WALTON, J.S; LUMSDEN, J.H. Factors associated with milk urea concentrations in Otario dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 107-114, 2001.

HARMEYER, J; MARTENS, H. Aspects of urea metabolism in ruminants with reference to the goat. **Journal of Dairy Science.**, v. 63, p. 1707 – 1728, 1980.

HELMER, L. G; BARTLEY, E.E; DEYOE, C.W. Feeding processing VI-comparison of starea, urea and soybean meal as protein sources for lactating dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 53, n.7, p. 883-887, 1970.

HERRERA-SALDANA, R; HUBER, J.T. Influence of varying protein and starch degradabilities on performance of lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, p. 1477, 1989.

HOF, G; VERVOORN, M.D; LENAERS, P.J; TAMMINGA, S. Milk urea nitrogen as a tool to monitor the protein nutrition of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 3333-3340, 1997.

HOJMAN, D; GIPS, M; EZRA, E. Association between live body weight and milk urea concentration in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 580-584, 2005.

HOJMAN, D; KROLL, O; ADIN, G; GIPS, M; HANOCHI, B; EZRA, E. Relationships between milk urea and production, nutrition and fertility traits in Israeli Dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 1001-1011, 2004.

HOOVER, C.W.; STOKES, S.R. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. **Journal of Dairy Science**, v. 74, 7 p. 3630-3638, 1991.

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

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

IMAIZUMI, H. **Avaliação de diferentes fontes e teores de proteína degradável no rúmen sobre o desempenho e parâmetros ruminais e sanguíneos de vacas Holandesas em final de lactação**. Piracicaba, 2000. 69p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

KALSCHUR, K.F; VANDERSALL, R.A; ERDMAN, 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, p. 545-554, 1999.

KOENIG, C.J; NEWBOLD, C.J; MCINTOSH, F.M; RODE, L.M. Effects of protozoa on bacterial nitrogen recycling in the rumen. **Journal of Animal Science** v. 78, n. 9, p. 2431-2445, 2000.

LUCCI, C.S. **Nutrição e manejo de bovinos leiteiros**. São Paulo: Manole, 1997. 169p.

MOORE D A; VARGA G. BUN and MUN: Urea nitrogen testing in dairy cattle. **Compendium on Cont. Educ. For the Practicing Vet.**, v. 18, p. 712-720, 1996.

LENG, R.A; NOLAN, J.V. Nitrogen metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.67, p. 1072-1089, 1984.

MACKIE, R.J; WHITE, B.A. Recent advances in rumen microbial ecology and metabolism: Potential impact on nutrient output. **Journal of Dairy Science**, v.73, n.10, p. 2971-2995, 1990.

MORRIS, S.M. Jr. Regulation of enzymes of the urea cycle and arginine metabolism. **Annual Review of Nutrition**, v. 22, p. 87-105, 2002.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. Washington, DC: National Academy of Science, National Academy Press, 1979.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Ruminant nitrogen usage**. Washington, DC: National Academy of Science, National Academy Press, 1985.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle.** Washington, DC: National Academy of Science, National Academy Press, 1989.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle.** Washington, DC: National Academy of Science, National Academy Press, 2001.

NELSON, D.L; COX, M.M. **Lehninger principles of biochemistry.** 3 ed. New york, Worth, 2000. 1152p.

NOCEK, J.E; RUSSEL, J.B. Protein and energy as na integrated system: Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 71, p. 2070, 1988.

NOUSIAINEN, J; Shingfield, K.J; HUHTANEN, P. Evaluation of milk urea nitrogen as diagnostic of protein feeding. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 386-398, 2004.

OLIVEIRA, A.S; VALADARES, R.F.D; VALADARES FILHO, S.C; CECON, P.R; OLIVEIRA, G.A; SILVA, R.M.N; COSTA, M.A.L. Consumo, digestibilidade aparente, produção e composição do leite de vacas alimentadas com quatro níveis de compostos nitrogenados não-protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n.4, p. 1358-1366, 2001.

ØRSKOV, E.R. **Protein nutrition in ruminants.** San Diego: Academic Press, 1992. 175p.

OWENS, F.N; BERGER, W.G. Nitrogen metabolism of ruminants animals: Historical perspective, current understanding, and future implications. **Journal of Animal Science**, v.57, p. 498, 1983.

OWENS, F.N; ZINN, R. Protein metabolism of ruminants. In: CHURCH, C.D. **The ruminant animal: digestive physiology and nutrition** New Jersey: Waveland Press, 1993. p. 564.

PERES, J.R O leite como ferramenta do monitoramento nutricional. In: González, F.D; DURR, J.W; FONTANELI, R.S. **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras.** Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001. p.30-45.

RAJALA-SCHULTZ, P.J; SAVILLE, W.J.A. Sources of variation in milk urea nitrogen in Ohio dairy herds. **Journal of Dairy Science**; v.86, p. 1653-1661, 2003

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, p. 525-534, 1993.

RUSSEL, J.B; HESPELL, R.B. Microbial rumen fermentation. **Journal of Dairy Science**, v. 64, p. 1153-1169, 1981.

SAMPELAYO, M.R.S; AMIGO, L; ARES, J.L; SANZ, B; BOZA, J. The use of diets with different protein sources in lactating goats: composition of milk and its suitability for cheese production. **Small Ruminant Research.**, v. 31, n.1, p. 37-43, 1998.

SAMPELAYO, M.R.S; PEREZ, M.L; EXTREMERA, F.G; BOZA, J.J; BOZA, J. Use of different dietary protein sources for lactating goats: milk production and composition as

functions of protein degradability and amino acid composition. **Journal of Dairy Science.**, v. 82, n.3, p. 555-565, 1999.

SANTOS, F.A.P; HUBER, J.T; THEURER, C.B; SWINGLE, R.S; SIMAS, J.M; CHEN, K.H; YU, P. Milk yield and composition of lactating cows fed steam-flaked sorghum and graded concentrations of ruminally degradable protein. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 215-220, 1998.

SANTOS, J. E. P.; DePETERS, E. J.; JARDON, P. W.; HUBER, J. T. Effect of prepartum dietary protein level on performance of primigravid and multiparous Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 84, p. 213 – 224, 2001.

SANTOS, F.P.; HUBER, J. T. Quality of bypass protein fed to high-producing cow is important. **Feedstuffs**. p.12-15, 1996.

SATTER, L.D; ROFFLER, R.E. Nitrogen requirements and utilization in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 58, p. 1219-1237, 1975.

SILVA, R.M.N; VALADARES, R.F.D; VALADARES FILHO, S.C; CECON, P.R; CAMPOS, J.M.S; OLIVEIRA, G.A; OLIVEIRA, A.S. Uréia para vacas em lactação. 1. Consumo, digestibilidade, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n.5, p. 1639-1649, 2001.

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, p. 579-584, 1998.

SUTTON, J. D. Symposium – Energy nutrition and metabolism of the lactating cow – Digestion and absorption of energy substrates in the lactating cow. **Journal of Dairy Science**, v. 68, p 3376 – 3390, 1985.

SWENSON, M.J; REECE, W.O. **Dukes-Fisiologia dos Animais Domésticos**. 11 ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro. 1996, 856 p

WISEK, W.J. Ammonia: It's effects on biological systems, metabolic hormones, and reproduction. **Journal of Dairy Science**, v. 67, p. 481-498, 1984.

WALSTRA, P., JENNESS, R. Proteins. *In Dairy Chemistry and Physics*. p. 8-122. John Wiley & Sons, Inc., New York, NY. 1984.

VOSS, V. L.; STEHR, D.; SATTER, L. D.; BRODERICK, G. A. Feeding lactating dairy cows proteins resistant to ruminal degradation. **Journal of Dairy Science**, v. 71, p. 2428-2439, 1988.

WESTWOOD, C.T; LEAN, I.J; KELLAWAY, R.C. Indications and implications for testing of milk urea in dairy cattle: a quantitative review. Part 2. Effect of dietary protein on reproductive performance. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 46, p. 123-130, 1998.

WILSON, G; MARTZ, F.A; CAMPBELL, J.R; BECHER, B.A. Evaluation of factors responsible for reduced voluntary intake of urea diets for ruminants. **Journal of Animal Science**, v.41, n.5, p. 1431-1437, 1975.

WINSRYG, M.D; ARAMBEL, M.J; WALTERS, J.L. The effect of protein degradability on milk composition and production of early lactation, somatotropin-injected cows. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.5, p. 1648-1653, 1991.

CAPÍTULO 3 - EFEITO DE NÍVEIS CRESCENTES DE URÉIA NA DIETA DE VACAS EM LACTAÇÃO SOBRE O CONSUMO, PRODUÇÃO, COMPOSIÇÃO E CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE.

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito de níveis crescentes de uréia na dieta de vacas em lactação sobre a produtividade e composição físico-química do leite. Foram utilizadas nove vacas Holandesas em lactação, em delineamento experimental tipo quadrado latino 3X3, com três tratamentos, três períodos e três quadrados. O experimento teve duração total de 63 dias divididos em 3 períodos de 21 dias. Os tratamentos foram: tratamento A (controle) com dieta formulada para suprir 100% das exigências do NRC (2001) em termos de PB, proteína degradável no rúmen (PDR), proteína não degradável no rúmen (PNDR), utilizando farelo de soja como principal fonte protéica e cana-de-açúcar como volumoso; tratamento B, dieta com a inclusão de 0,75% de uréia, em substituição parcial ao farelo de soja, e tratamento C, dieta com inclusão de 1,5% de uréia, em substituição parcial ao farelo de soja. Todas as dietas foram isoenergéticas (1,53 Mcal/kg de Energia Líquida de Lactação) e isoprotéicas (16% de Proteína Bruta). Não foram observadas diferenças entre os tratamentos quando os resultados foram analisados por regressão polinomial simples, quanto a: consumo de matéria seca, produção de leite, produção de leite corrigida para 3,5%, produção de proteína, produção de gordura e Log CCS. Também não houve influência dos tratamentos sobre pH, crioscopia, densidade e prova de resistência ao álcool. No entanto, a acidez, sofreu efeito linear decrescente ($P = 0,017$) em função dos níveis de uréia na dieta. Quanto à composição, os teores de proteína, gordura, lactose, uréia, extrato seco total e extrato seco desengordurado também não foram influenciados pelos tratamentos. Estes resultados sugerem

que o uso de até 1,5% de uréia na matéria seca da dieta não altera a capacidade de produção de leite e as suas características físico-químicas e de composição.

Palavras-chave: cana-de-açúcar, uréia, consumo, produção de leite, composição do leite.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effects of three different dietary levels of urea on milk yield and composition. Nine lactating Holstein cows were used in a 3X3 latin square arrangement, with 3 treatments, 3 periods of 21 days each and 3 squares. The treatments were: A) NRC-based (NRC, 2001) diet to provide 100% of Crude Protein (CP), as well as, rumen undegradable protein (RUP) and rumen degradable protein (RDP) requirements, by using soybean meal and sugar cane; B) 0,75% urea inclusion; C) 1,5% urea inclusion. Energy and protein levels of rations comply with NRC (2001), and were isoenergetic and isoproteic. No statistical differences were observed among treatments. Results were analyzed by simple polynomial regression, in which dry-matter intake, milk yield, 3,5% FCM, protein and fat yield, and somatic cell count (Log SCC). Cryoscopy, pH, milk density and alcohol stability were not influenced by treatments, although acidity showed significance ($P=0,017$), linearly decreasing by the increase of urea levels in ration. The protein level, fat, lactose, urea, total solids and solids with no fat were not influenced by treatments. Results can indicate that the use of urea up to 1,5% in DM has no effect on milk yield and its composition.

Keywords: sugarcane, urea, dry matter intake, milk yield, milk composition.

3.1 Introdução

A composição do leite tem assumido importância crescente, já que sua qualidade é uma exigência direta dos consumidores finais e dos laticínios. Os primeiros, buscam um produto nutricionalmente equilibrado e os últimos, um leite com teor de sólidos que garanta maior produção de lácteos. O aumento no consumo de produtos derivados, como queijo, cujo rendimento depende diretamente da concentração e da composição da proteína do leite, faz com que hoje o pagamento por qualidade seja uma realidade no Brasil.

A produção de leite de qualidade depende da nutrição, fator responsável pelo maior gasto na criação de animais e com influência direta e indireta na produtividade. Além de ser ponto determinante na produção de leite, ela é responsável por grande parte dos custos com reprodução e sanidade do rebanho. Por isso, estratégias que diminuam os custos de alimentação sem interferir negativamente na produção são frequentemente procuradas (PERES, 2001).

Sendo assim, conhecer o metabolismo ruminal é fundamental para entender quais são os pontos críticos na nutrição e manejo alimentar da vaca leiteira que influenciam de forma direta na produção e composição do leite. Em nutrição de gado leiteiro, os objetivos principais são promover o aumento do consumo de alimentos, maximizar a fermentação ruminal e suplementar com fontes não degradáveis de energia e proteína, fatores estes limitantes para o crescimento microbiano e para a produtividade (CLARK; KLUSMEYER; CAMERON, 1992; STOKES et al., 1991).

No Brasil, o uso da cana-de-açúcar, como volumoso para vacas de leite é uma ótima alternativa para estágios de lactação em que a exigência nutricional não é máxima (CORREA et al., 2003). A cana-de-açúcar é um volumoso energético que possui alta produção por unidade de área e disponibilidade durante todo o ano. O fato de manter o valor nutritivo durante todo o seu ciclo pode torná-la uma boa opção para alimentação do gado leiteiro,

especialmente durante os períodos de seca. No entanto, as suas limitações nutricionais devem ser consideradas ao utilizá-la na nutrição do rebanho. Os baixos teores de proteína, com aminoácidos sulfurados limitantes, baixo teor de lipídeos, baixo teor de minerais, especialmente o fósforo, baixa digestibilidade da fibra, ausência de amido e a presença de carboidratos de rápida fermentação levam ao menor consumo de matéria seca, o que exige consideração especial na formulação das dietas, principalmente em relação à categoria animal (DEMARCCHI, 2001). No entanto, algumas publicações demonstram que apesar das limitações nutricionais, o uso racional da cana-de-açúcar pode ser benéfico. Magalhães et al. (2004) ao utilizarem quatro níveis de substituição da silagem de milho por cana-de-açúcar (0%, 33,33%, 66,66% e 100%), relataram uma diminuição da produção de leite e da produção de leite corrigida para 3,5%, mas sem alteração da composição do leite. Mesmo assim, a utilização da cana-de-açúcar é viável economicamente até o nível de substituição de 33,33%.

Além disso, os ruminantes respondem bem quando fontes de nitrogênio não protéico são oferecidas para suprir parte das necessidades de nitrogênio, para vacas alimentadas com dietas de média ou alta concentração energética. O uso de dietas contendo até 2% de uréia na matéria seca parece não alterar a produção de vacas em estágios finais de lactação (CARMO, 2001). Se houver energia disponível derivada da fermentação dos carboidratos, o nitrogênio não protéico é degradado a amônia e utilizado para a produção de proteína microbiana, que posteriormente passará ao intestino delgado onde sofre a ação das peptidases intestinais e libera aminoácidos. Assim, os ruminantes são capazes de sintetizar a partir de uma fonte de nitrogênio de origem não protéica, os aminoácidos considerados essenciais para a maioria dos mamíferos. No entanto, para que essa síntese seja eficiente é necessário levar em consideração fatores como relação proteína:energia, quantidade adequada de enxofre, para a síntese de aminoácidos sulfurados, como metionina, cisteína, cistina e relação PDR:PNDR (FORBES; FRANCE, 1993).

Diante disso, o potencial do binômio cana-de-açúcar-uréia pode ser explorado. Mendonça et al. (2004) reportaram que o uso de cana-de-açúcar diminui o consumo de matéria seca da dieta, aumenta o consumo de matéria seca do concentrado e diminui a produção, sem alterar a composição do leite. Verificaram também que embora levem à variação negativa do peso corporal, dietas com níveis maiores de substituição da silagem de milho por cana-de-açúcar podem produzir desempenhos melhores quando adicionadas de 0,35% de uréia e sulfato de amônio.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de 3 níveis crescentes de uréia (0%, 0,75% e 1,5%), utilizada como fonte de nitrogênio não protéico, sobre a produção e características físico-químicas e de composição do leite de vacas leiteiras em meio de lactação. Especificamente, pesquisou-se o efeito dos diferentes tratamentos sobre o consumo de matéria seca (kg/dia), produção de leite (kg/dia), produção de proteína (g/dia) e de gordura (g/dia), peso vivo (kg) e Log da contagem de células somáticas, pH, crioscopia (°H), densidade (mg/dia), acidez titulável (°D), prova de resistência ao álcool e proteína bruta (%), gordura (%), lactose (%), extrato seco total (%), extrato seco desengordurado (%) e uréia (mg/dl).

3.2 Materiais e métodos

3.1.1 Delineamento experimental e seleção das vacas

Foi utilizado o delineamento tipo quadrado latino 3X3, com 3 tratamentos, 3 períodos de 21 dias (totalizando 63 dias) e 3 quadrados (PIMENTEL GOMES, 1985), sendo respeitado um período de adaptação de 17 dias, com coleta de amostras de leite nos 4 últimos dias de cada período (Tabela 1):

Tabela 1 - Delineamento em quadrado latino 3x3, composto por 3 quadrados.

Período	Quadrado 1			Quadrado 2			Quadrado 3		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
I	A	B	C	A	B	C	A	B	C
II	B	C	A	C	A	B	B	C	A
III	C	A	B	B	C	A	C	A	B

Quinze dias antes do início do experimento, amostras de leite dos 45 animais do rebanho leiteiro da Prefeitura do Campus Administrativo de Pirassununga (PCAPS-USP) foram coletadas e analisadas quanto a contagem de células somáticas e composição, de acordo com a metodologia de citometria fluxométrica no equipamento Somacount 500 (Bentley Instruments Inc. Chasca, MN, USA). Foram selecionadas vacas em bom estado de saúde, que apresentavam CCS inferior a 300.000 cel/ml e composição do leite normal. Foi adotado o regime de duas ordenhas diárias, sendo uma realizada no período da manhã (7 horas) e a outra no período da tarde (15 horas).

Foram utilizadas 9 vacas adultas (> 2ª lactação) da raça Holandesa, do 2º ao 7º mês de lactação com peso vivo médio de 560 kg. Os animais foram alojados no Estábulo Experimental da PCAPS-USP, cujas instalações contam com baias individuais com cochos de cimento, que possibilitaram a avaliação do consumo de alimentos, bebedouros automáticos comuns a cada 2 animais e ventiladores de teto.

3.2.2 Tratamentos experimentais

Os tratamentos foram correspondentes às dietas fornecidas às vacas em lactação, as quais foram divididas em 3 grupos de 3 animais cada, e submetidas a um dos tratamentos a seguir (Tabela 2):

- A) 0% de uréia (controle) na matéria seca, com dieta formulada para suprir 100% das exigências de NRC (2001) em termos de proteína bruta (PB), proteína degradável no rúmen (PDR), PNDR (proteína não degradável no rúmen), utilizando farelo de soja como fonte protéica e cana-de-açúcar como volumoso;
- B) 0,75% de uréia, com dieta formulada para atender 100% das exigências do NRC (2001) em termos de PB, com inclusão de 0,75% de uréia na matéria seca e manutenção do nível de PB da dieta controle e cana-de-açúcar como volumoso;
- C) 1,5% de uréia, com dieta formulada para atender 100% das exigências do NRC (2001) em termos de PB, com inclusão de 1,5% de uréia e manutenção do nível de PB da dieta controle e cana-de-açúcar como volumoso.

Todas as dietas formuladas eram isoprotéicas, contendo 16% de proteína bruta na matéria seca e isoenergéticas, com 1,53 Mcal/kg de energia líquida de lactação. As dietas foram fornecidas na forma de mistura completa, 2 vezes ao dia (após as ordenhas da manhã e da tarde) e visava permitir 5 % de sobras. Diariamente, foi registrada a produção diária das ordenhas, ocorrência de doenças metabólicas, incidência de mastite clínica e consumo de alimentos.

Tabela 2 - Proporções de ingredientes utilizados e composição bromatológica das dietas, com base na matéria seca.

Ingredientes	Tratamentos (M.S., %)		
	0% uréia	0,75% uréia	1,5% uréia
Cana de açúcar (%)	43,35	41,45	39,50
Milho grão, moído (%)	28,12	34,72	41,33
Farelo de Soja 44 (%)	25,70	20,17	14,61
Uréia 45% N (%)	0	0,75	1,50
Fosfato bicálcico (%)	0,39	0,50	0,62
Calcário calcítico (%)	0,94	0,94	0,94
Sal branco (%)	0,50	0,50	0,5
Mistura mineral ¹ (%)	1,00	1,00	1,00
Composição			
MS (%)	61,82	63,85	64,03
PB (%)	16,17	16,33	16,21
Proteína degradável (% da PB)	66,60	69,63	72,65
Proteína não degradável (% a PB)	33,40	30,37	27,35
Uréia	0	0,75	1,5
FDA (%)	21,80	20,48	19,41
FDN (%)	31,76	30,34	29,56
EE (%)	5,22	5,03	5,13
Cálcio (%)	0,72	0,72	0,80
Fósforo (%)	0,46	0,44	0,45
Energia líquida de lactação (Mcal/kg)	1,53	1,53	1,53
Matéria Mineral ¹	4,91	4,70	4,30

PB= proteína Bruta, FDA= Fibra Detergente Ácido, FDN= Fibra Detergente Neutro, EE= Extrato Etéreo. ¹Composição por kg de mistura mineral: 180g Ca, 90g P, 20g Mg, 20g S, 100g Na, 3.000mg Zn, 1.000mg Cu, 1.250mg Mn, 2.000mg Fe, 200mg Co, 90mg I, 36mg Se, 900mg F (máximo).

3.2.3 Coleta de amostras e metodologias de análise

Durante os quatro últimos dias de cada um dos três períodos experimentais foi realizada a pesagem das sobras, coleta das amostras das dietas e coleta das amostras de leite. Os animais foram pesados no início e no final de cada sub-período experimental.

Amostras de cana e concentrado de cada um dos três tratamentos foram coletadas, acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas a - 20°C até a realização das análises bromatológicas. Tais análises foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP. Após a determinação da matéria seca, de acordo com a Association Official American Chemists (1990), as amostras foram moídas em moinho tipo *Wiley* providos de peneiras de 1 mm e submetidas às análises de proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), matéria mineral (MM), cálcio (Ca), fósforo (P) segundo a AOAC (1990), fibra detergente neutro (FDN) segundo Van Soest et al. (1991) e fibra detergente ácido (FDA) de acordo com Goering e Van Soest (1970).

A coleta das amostras de leite ocorreu nas duas ordenhas diárias e foi proporcional a produção de leite (60% correspondente à ordenha da manhã e 40% à ordenha da tarde). As amostras de leite foram analisadas, em duplicata, quanto à concentração de gordura (%), lactose (%), sólidos totais (%) por absorção infravermelha no equipamento Bentley 2000 (Bentley, 1995), CCS (cel/ml) por citometria fluxométrica no equipamento Somacount 500 (Bentley Instruments Inc. Chasca, MN, USA), uréia (mg/dl) pelo método colorimétrico-enzimático no equipamento Chemspec 150 (Bentley Instruments Inc. Chasca, MN, USA), pH, acidez titulável (°D), densidade (mg/dl), crioscopia (°H), prova de resistência ao álcool segundo metodologia descrita por Pereira et al. (2001) e nitrogênio total (NT), pelo método de Kjeldahl descrita pela AOAC (1990). Para conversão do NT em proteína bruta (PB) utilizou-se o fator de conversão 6,38 (BARBANO; CLARK, 1990).

3.2.4 Análise estatística

Para as variáveis correspondentes ao leite cru foi utilizada a média dos dados obtidos durante os 4 dias para cada vaca, excluindo-se as perdas de amostrais (8 amostras em 108). Para a produção de leite foi utilizada a média de 4 dias de produção para cada vaca (n=108), já que esta foi acompanhada durante os 63 dias do período experimental. Por sua vez, o peso vivo foi obtido a partir da média de peso de cada uma das vacas ao final de cada período, já que os animais foram pesados no início e no final de cada sub-período experimental (a cada 21 dias). Todos os resultados foram analisados pelo programa computacional Statistical Analysis System (SAS Institute, Inc; 1985), após verificação da normalidade dos resíduos pelo teste de SHAPIRO-WILK (PROC UNIVARIATE) e da homogeneidade das variâncias pelo teste F. Para a variável contagem de células somáticas (CCS) que não atendeu as premissas mencionadas, foi realizada a transformação logarítmica [$\text{Log}(X+1)$]. Posteriormente, os resultados originais e transformados foram submetidos às análises de variância e regressão polinomial simples, utilizando como fontes de variação o tratamento, animal (dentro de quadrado), período e quadrado (PROC GLM). Foi considerado um nível de significância de 5% para todos os testes realizados.

3.3 Resultados e discussão

3.3.1 Consumo de alimentos e produção de leite

As médias referentes ao consumo de matéria seca, produção de leite, produção de leite corrigida para 3,5% de gordura, porcentagem de gordura, produção de gordura, porcentagem de proteína, produção de proteína e peso vivo, bem como o desvio padrão e coeficiente de variação, estão apresentados na tabela 3.

Tabela 3 - Médias, coeficiente de variação (CV) e probabilidade (p) dos efeitos linear (L) e desvio (D) para o consumo de matéria seca (CMS), produção de leite (PL), produção de leite corrigida (LCG 3,5%), concentração de gordura, produção de gordura, concentração de proteína, produção de proteína, lactose, produção de lactose, extrato seco total, peso vivo e Log da contagem células somáticas (Log CCS) em função dos níveis crescentes de uréia.

VARIÁVEL	N	TRATAMENTOS (% uréia)				X	CV	p*	
		0	0,75	1,5				L	D
CMS (kg/dia)	100	16,13	16,74	16,25	16,38	18,35	NS	NS	
PL (kg/dia)	108	23,38	22,56	22,36	22,77	26,7	NS	NS	
LCG 3,5% (kg/dia)	100	21,72	20,54	20,86	21,05	24,29	NS	NS	
Proteína (%) ¹	100	3,30	3,08	3,18	3,18	10,04	NS	NS	
Produção de Proteína (g/d) ¹	100	743,56	689,21	695,76	709,50	23,86	NS	NS	
Gordura (%) ¹	100	3,12	2,97	3,17	3,08	11,72	NS	NS	
Produção de Gordura (g/d) ¹	100	715	664	691	690	22,69	NS	NS	
Lactose ¹	100	4,63	4,66	4,64	4,64	4,40	NS	NS	
Produção de Lactose (g/d) ¹	100	1071,30	1061,82	1101,33	1,08	24,72	NS	NS	
EST (%) ¹	100	12,02	11,87	12,05	11,98	5,50	NS	NS	
Produção de EST (g/d) ¹	100	2802,40	2712,54	2821,16	2777,07	24,11	NS	NS	
PV (kg)	54	590,26	593,06	588,42	590,58	10,64	NS	NS	
Log CCS (x 1000 cel/ml) ²	100	4,72	4,45	4,43	4,43	18,75	NS	NS	

¹Resultados baseados em análises realizadas pelo método infravermelho; ² Resultados baseados em análises realizadas pelo método de citometria fluxométrica; CMS= consumo de matéria seca; PL= produção de leite; LGG= produção de leite corrigida para 3,5% de gordura; PV= peso vivo; Log CCS= Log do número de células somáticas; X= Média; CV= Coeficiente de Variação; L= Probabilidade para efeito linear; probabilidade para efeito de desvio ; NS= não significativo; * p< 0,05

Não foi observado efeito dos tratamentos sobre o consumo de matéria seca (CMS). Foram registrados os seguintes resultados para o CMS: 16,13 kg/dia para o tratamento controle, 16,74 kg/dia para o tratamento com 0,75% de uréia e 16,25 kg/dia para o tratamento com 1,5% de uréia, demonstrando que a substituição parcial do farelo de soja pela uréia não exerceu influência sobre o consumo de alimentos pelos animais. Estes resultados concordam com os obtidos por Carmo (2001) que ao utilizar dieta composta por silagem de capim elefante, polpa cítrica peletizada, raspa de mandioca, suplemento vitamínico-mineral e suplemento protéico composto por farelo de soja, farelo de soja e 2% de uréia ou farelo de soja e amiréia, não observou diminuição no consumo de matéria seca das vacas em relação aos tratamentos. No entanto, contrastam com Oliveira et al. (2001) e Silva et al. (2001), que observaram diminuição linear no consumo de matéria seca ao se elevarem de 0% a 2,1% os níveis de uréia na dieta. Nesse caso, duas poderiam ser as explicações para essa diminuição do consumo. Wilson et al. (1975) atribuíram à redução do consumo de matéria seca em dietas contendo acima de 2% de uréia a catabólitos intermediários do metabolismo da uréia. Embora, nenhum nível de intoxicação tenha sido observado e a concentração de amônia sanguínea não tenha sido influenciada por níveis mais elevados de uréia, as concentrações de uréia no rúmen, na saliva e no sangue venoso e arterial estiveram mais elevadas. Por outro lado, Huber e Cook (1972) atribuíram a diminuição no consumo à baixa palatabilidade da uréia e não aos efeitos ruminais ou pós-ruminais desta. Deve ser levado em consideração que o suprimento de N degradável para os microorganismos ruminais, assim como a disponibilidade de proteína para síntese do leite afetam o CMS. O aporte deficiente ou excessivo de PDR, respectivamente, leva a diminuição no consumo por prejudicarem a atividade das bactérias celulolíticas ou gerarem produção excessiva de amônia com conseqüências sobre a motilidade e fermentação ruminal (FAVERDIN, 2003).

De qualquer forma, segundo estudos conduzidos por Kertz et al. (1982), vacas que nunca foram submetidas à alimentação com uréia, precisam de um período de adaptação para desenvolver aversão às dietas com alto conteúdo desta. As vacas utilizadas no presente estudo foram submetidas a um período de adaptação de 17 dias que, mostrou-se eficiente em evitar a ocorrência de redução de consumo. Além disso, a palatabilidade não foi comprometida pela inclusão de uréia nas dietas, já que este ingrediente foi previamente misturado ao concentrado.

As médias de produção de leite de 23,38 kg/dia, 22,56 kg/dia e 22,36 kg/dia para 0%, 0,75% e 1,5% de uréia respectivamente, também não sofreram influência dos tratamentos. Resultados semelhantes foram obtidos por Cabrita et al. (2003) que não encontraram diferenças significativas ao utilizarem 0, 0,5 e 1,0% de uréia nos concentrados, em substituição ao farelo de soja, sendo a silagem de milho o principal volumoso. Dunlap (2000), ao utilizar farelo de soja, farelo de soja protegido e uréia para formular dietas com 35 ou 29% de PNDR, não observou diferenças na produção de leite. Davidson et al. (2003) também não encontraram diferença na produção de leite ao utilizarem dietas com diferentes teores e degradabilidades da proteína dietética. Ao estudarem a concentração, degradabilidade e qualidade da proteína, avaliaram que a produção não é afetada significativamente. Christensen, Lynch e Clark (1993) ao utilizar um esquema fatorial 2X2 para avaliar diferentes concentrações e degradabilidades de proteína na dieta não encontraram diferença significativa para nenhum dos tratamentos avaliados.

Em contraste, Oliveira et al. (2001), Silva et al. (2001) e Oliveira et al. (2004) ao utilizarem diferentes níveis de uréia na alimentação das vacas em lactação, descreveram um efeito linear negativo dos níveis crescentes sobre a produção de leite das vacas, o que poderia ser explicado, nesses casos, pela diminuição no consumo de matéria seca.

Flis e Wattiaux (2005) ao estudarem a influência do número de partos e da suplementação de PDR e PNDR sobre as características produtivas, verificaram que o

consumo de matéria seca e a produção aumentam com a adição de farelo de soja tratado como forma de aumentar a fração PNDR da dieta. Por outro lado, essas variáveis respondem negativamente a suplementação de farelo de soja tradicional como forma de aumentar a proteína degradável no rúmen acima das exigências previstas pelo NRC (2001).

Ipharraguerre e Clark (2005) ao revisarem 112 trabalhos publicados de 1981 a 2003 verificaram que há uma variabilidade na resposta das vacas à suplementação com fontes de PNDR da ordem de -2,5% a +2,75%. Devido a essa variabilidade e a pequena magnitude da resposta positiva, a avaliação na eficiência da utilização do nitrogênio, bem como da relação custo-benefício é necessária para determinar a viabilidade da utilização dessas fontes.

Cameron et al. (1991) observaram aumento na produção de leite com a adição de 0,75% de uréia na dieta, embora a produção de leite corrigida para 4% de gordura não tenha apresentado a mesma tendência. Santos et al. (1998) trabalharam com três níveis de PNDR diferentes para vacas em lactação e observaram que a resposta dos animais a diferentes fontes e degradabilidades da proteína depende da fermentação da fonte de energia utilizada. A combinação da PNDR com o amido fermentável no rúmen proveniente de sorgo floculado resultou em aumento do consumo de matéria seca e produções de leite maiores em animais alimentados com uréia.

No presente estudo, não houve diferenças significativas no peso vivo em função dos níveis crescentes de uréia utilizados nos tratamentos. Resultados semelhantes foram obtidos por Silva et al (2001) ao utilizarem quatro níveis de uréia (0%, 0,7%, 1,4% e 2,1%) para vacas Girolandas em início de lactação, demonstrando o atendimento das exigências protéicas e energéticas dos animais.

A contagem de células somáticas (CCS) foi utilizada no presente estudo para monitorar a ocorrência de mastite subclínica das vacas estudadas, o que poderia ter influências significativas sobre a produção e composição do leite. A contagem foi menor que

200.000 cel/ml em todos os tratamentos e o Log da CCS não apresentou diferenças significativas em função dos níveis crescentes de uréia na dieta.

3.3.2 Características físico-químicas e de composição do leite

As médias referentes ao pH, acidez, crioscopia, densidade, prova do álcool, bem como o coeficiente de variação e as probabilidades de efeito linear (L) e desvio (D), estão apresentados na tabela 4 e 5.

A análise da característica físico-química é uma forma de avaliar a adequação do leite ao processamento pela indústria de laticínios, além de ser indicativo de qualidade e da adequação do manejo nutricional dos rebanhos leiteiros. Isto porque fatores como pH, densidade, acidez, índice crioscópico e prova de resistência ao álcool sofrem influência das concentrações de água, proteína e gordura presentes no leite e estas, são marcadamente influenciadas pela nutrição. No presente estudo, não houve diferenças para densidade, índice crioscópico e prova de resistência ao álcool em relação aos tratamentos. No entanto, a acidez sofreu efeito linear decrescente em função de níveis de uréia da dieta ($P = 0,017$). Não foram encontrados na literatura indexada estudos que avaliaram o efeito direto da uréia sobre as características físico-químicas do leite.

Tabela 4 - Médias, coeficiente de variação (CV) e probabilidade dos efeitos linear (L) e desvio (D) para pH, acidez, crioscopia, densidade e prova de resistência ao álcool em função dos níveis crescentes de uréia.

VARIÁVEL	N	TRATAMENTOS (% uréia)			X	CV	p	
		0	0,75	1,5			L	D
pH	100	6,71	6,7	6,71	6,71	0,81	NS	NS
Acidez (°D)	100	17,78	17,33	16,75	17,31	7,97	0,017	NS
Crioscopia (°H)	100	-0,543	-0,545	-0,54	-0,543	1,67	NS	NS
Densidade (mg/ml)	100	1031,59	1031,34	1031,11	1031,4	0,10	NS	NS
Prova de resistência ao álcool								
Total de Amostras coaguladas (%)	100	19,45	16,57	16,57			NS	NS
Amostras coaguladas a 80° (%)	100	5,56	0	0			NS	NS
Amostras coaguladas a 84° (%)	100	13,89	16,57	16,57			NS	NS

¹ Resultados obtidos com base nas análises realizadas pelo método infravermelho; X= Média; CV= Coeficiente de Variação; L= Probabilidade para efeito linear; probabilidade para efeito de desvio ; EST= Extrato Seco Total; ESD= Extrato Seco Desengordurado NS= não significativo; * p< 0,05

Tabela 5 – Médias, coeficiente de variação (CV) e probabilidade dos efeitos linear (L) e desvio (D) para proteína, gordura, lactose, extrato seco total (EST), extrato seco desengordurado (ESD) e uréia em função dos níveis crescentes de uréia.

VARIÁVEL	N	Tratamentos (% uréia)			Média	CV	p	
		0	0,75	1,5			L	D
Proteína (%)	100	3,35	3,2	3,27	3,28	11,78	NS	NS
Gordura (%) ¹	100	3,12	2,97	3,17	3,08	11,72	NS	NS
Lactose (%) ¹	100	4,63	4,66	4,64	4,64	4,4	NS	NS
EST (%) ¹	100	12,02	11,87	12,05	11,98	5,5	NS	NS
ESD(%)	100	8,9	8,89	8,89	8,89	5,22	NS	NS
Uréia (mg/dl) ²	100	17,97	17,28	17,48	17,56	16,59	NS	NS

¹ Resultados obtidos com base nas análises realizadas pelo método infravermelho; ² Resultados obtidos com base nas análises realizadas pelo método colorimétrico enzimático; CV= Coeficiente de Variação; L= Probabilidade para efeito linear; probabilidade para efeito de desvio ; NS= não significativo; * p< 0,05

No presente estudo, também não foram encontradas diferenças para os teores de lactose, o que concorda com os resultados obtidos por Carmo (2001), que não relatou diferenças significativas nas concentrações de lactose, embora esta tenha apresentado teores mais baixos, provavelmente devido ao estresse calórico sofrido pelas vacas. Já a ausência de diferença para os teores de sólidos totais neste estudo, concorda com os resultados obtidos por Keery e Amos (1993), mas diferem dos apresentados por Carmo (2001) que descreveram maior teor de sólidos totais para o tratamento com 2% de uréia, embora a produção deste não tenha diferido.

No presente estudo, as concentrações de proteína bruta e gordura do leite, assim como as suas respectivas produções em g/dia não foram significativamente alteradas pelos níveis de

uréia na dieta. Resultados semelhantes foram encontrados por Christensen et al. (1993) que ao estudarem o efeito de 2 teores de proteína e 2 taxas de degradabilidade sobre a produção e composição do leite de vacas Holandesas, não encontraram efeito da taxa de degradabilidade, nem do teor de proteína sobre a porcentagem e a produção de proteína do leite, no entanto houve interação entre a porcentagem de proteína na dieta e PNDR. Assim, diminuindo-se a quantidade de PNDR na dieta com baixos teores de PB há pequeno efeito sobre a produção de proteína, mas diminuindo a proporção de PNDR numa dieta com alta proteína há aumento na produção da proteína na ordem de 130 g/dia. Este resultado foi devido ao aumento não significativo na produção de leite para o tratamento alta proteína e baixo PNDR, fato que poderia ser explicado pelo maior consumo de matéria seca das vacas.

Carmo (2001) também não encontrou diferença significativa da inclusão de uréia sobre o teor e a produção de proteína bruta do leite. Cameron (1991) encontrou aumento na produção de proteína do leite, embora em termos de porcentagem não tenha apresentado o mesmo resultado.

Para produção e porcentagem de gordura do presente estudo não houve diferenças significativas entre os tratamentos em função dos níveis crescentes de uréia na dieta. Esses resultados diferem dos apresentados por Carmo (2001) que observou aumento no teor e na produção de gordura no tratamento com uréia. Neste caso, os resultados podem ter ocorrido devido ao efeito benéfico na degradação da fibra ou pelo pH ruminal, mais elevado nas primeiras horas após a alimentação.

Não houve diferenças significativas entre tratamentos para concentração e produção de gordura no presente estudo, mas foi observada uma redução destes parâmetros que poderia ser explicado pelo maior consumo de concentrado durante a realização do experimento. Baker et al. (1995) não encontraram diferenças significativas na porcentagem de gordura do leite, em função da variação na quantidade e na relação PDR:PNDR. Já as concentrações de proteína

bruta variaram, sendo maiores em tratamentos que apresentavam quantidades balanceadas das duas frações ou excessivas em PDR, mas balanceadas em PNDR. Quando as dietas apresentavam deficiência em PNDR, ou balanço nas duas frações, mas sem suprimento de aminoácidos, as concentrações foram menores.

Flis e Wattiaux (2005) verificaram que a composição do leite não é alterada pelos níveis de PNDR e PDR ou pela ordem de parição, não havendo também interação entre os fatores estudados. Castillo et al. (2001) observaram que uma quantidade reduzida de proteína na dieta (150 g PB/Kg MS), associada a uma degradabilidade média da proteína, aumenta a eficiência da utilização do nitrogênio sem comprometer a produção ou a composição do leite das vacas.

Atualmente, as concentrações de nitrogênio uréico do leite (NUL) são utilizadas como forma de avaliar a eficiência do manejo nutricional dos rebanhos, especialmente quanto à nutrição protéica, já que este é diretamente afetado pela concentração de proteína na dieta. Dessa forma, pode auxiliar no monitoramento nutricional das vacas leiteiras, contribuindo para melhorar a eficiência de utilização do nitrogênio, indicando a fração que escapa à utilização pelas bactérias ruminais e que são eliminados na urina (NOUSIAINEN; SHINGFIELD; HUHTANEN, 2004; JONKER; KOHN; ERDMAN, 1998). A eficiência na utilização do nitrogênio é dependente da disponibilidade e eficiência no uso da energia presente na dieta (BACH, 2005). Nesse experimento, onde as dietas foram isoprotéicas e isoenergéticas, a concentração de uréia do leite em mg/dl não foi afetada pelos tratamentos.

3.4 Conclusões

Com base nos resultados obtidos no presente estudo, podem ser enumeradas as seguintes conclusões:

- a) A utilização da cana-de-açúcar não afeta a produção de leite de vacas em meio de lactação com produção de até 25 kg de leite/dia;
- b) A uréia, adicionada ao concentrado, e fornecida em dieta mistura total (volumoso e concentrado oferecidos simultaneamente), não altera a palatabilidade e, como consequência, o consumo de matéria de vacas leiteiras;
- c) As características físico-químicas do leite (densidade, crioscopia, prova de resistência ao álcool e pH) não são influenciadas pela inclusão de até 1,5% de uréia na matéria seca da dieta de vacas em meio de lactação. Quanto à acidez, valores maiores foram obtidos em função de níveis crescentes da dieta;
- d) A composição do leite também não é afetada pela substituição do farelo de soja pela uréia, sendo que os valores de proteína, gordura, lactose, extrato seco total, extrato seco desengordurado e uréia, não foram afetados pela concentração da uréia na dieta.

Assim, pode-se concluir que a utilização de cana-de-açúcar como volumoso e até 1,5% de uréia na matéria seca da dieta de vacas em meio de lactação não altera o desempenho produtivo e as características físico-químicas e de composição do leite.

3.5 Referências bibliográficas

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. Arlington, VA. 11.ed. Washington, 1990. 1050p.

BACH, A; CALSAMIGLIA, S; STERN, M.D. Nitrogen metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.88, p. 9-21, 2005. Supplementum E.

BAKER, L.D; FERGUNSON, J.D; CHALUPA, W. Responses in urea and true protein feeding schemes for protein of milk to different dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.78, n. 11, p. 2424-2434, 1995.

BARBANO, D.M., CLARK, J.L. Kjeldahl method for determination of total nitrogen content of milk: collaborative study. **Journal AOAC International**. v.73, p.849-859, 1990.

BENTLEY INSTRUMENTS: **Bentley 2000**: operator's manual. Chasca, 1995.

BENTLEY INSTRUMENTS: **Somacount 500**: operator's manual, Chasca, 1995.

CABRITA, A.R.J; FONSECA, A.J.M; DEWHURST, R.J; SAMPAIO, C.V.P; MIRANDA, M.F.S; SOUSA, G.N.S; MIRANDA, M.F; GOMES, E. Nitrogen supplementation of corn silages. 1. Effects on feed intake and milk production of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 12, p. 4008-4019, 2003.

CAMERON, M.R; KLUSMEYER, T.H; LYNCH, G.L; CLARK, J.H; NELSON, D. R. Effects of urea and starch on rumen fermentation, nutrient passage to the duodenum, and performance of cows. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n.4, p.1321-1336, 1991.

CARMO, C.A. **Substituição do farelo de soja por uréia ou amiréia em dietas para vacas leiteiras em final de lactação**. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, 74p. 2001.

CASTILLO, A.R; KEBREAB, E; BEEVER, D.E; BARBI, J.H; SUTTON, J.D; KIRBY, H.C; FRANCE, J. The effect of protein supplementation on nitrogen utilization in lactating dairy cows fed grass silage diets. **Journal of Animal Science**, v.79, n.1, p. 247-253, 2001.

CHRISTENSEN, R.A; LYNCH, G.L; CLARCK, J.H; YU, Y. Influence of amount and degradability of protein on production of milk and milk components by lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n.11, p. 3490-3496, 1993.

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.

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.

DAVIDSON, S; HOPKINS, B.A; DIAZ, D.E; BOLT, S.M; BROWNIE, C; FELLNER, V; WHITLOW, L.W. Effects of amounts and degradability of dietary protein on lactation, nitrogen utilization, and excretion in early lactation Holstein cows **Journal of Dairy Science**, v.86, n.5, p.1681-1689, 2003

DEMARCCHI, J. O uso da cana-de-açúcar como recurso forrageiro. In: XVIII SIMPÓSIO de MANEJO DE PASTAGENS DA ESALQ, Piracicaba, 2001.

DUNLAP, T.F; KOHN, R.A; DOUGLASS, L.W; ERDMAN, R.A. Diets deficient in rumen undegraded protein did not depress milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 8, p. 1806-1812, 2000.

FAVERDIN, P; M'HAMED, D; RICO-GÓMEZ, M; VÉRITÉ, R. La nutrition azotée influence l'ingestion chez la vache laitière. **INRA Productions Animales**, v. 16, n.1, p. 27-37, 2003.

FLIS, S.A; WATTIAUX, M.A. Effects of parity and supply of rumen-degraded and undegraded protein on production and nitrogen balance in Holsteins. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n.6, p.2096-2106, 2005.

FORBES, J.M; FRANCE, J. **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. Oxon: Cab International, 1993. 515p.

GOERING, H.K; VAN SOEST, P.J. **Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications)**. Agricultural Handbook, 379. Washington: USDA, ARS, 1970.155p

HUBER, J.T; COOK, R.M. Influence of site of administration of urea on voluntary intake of concentrate by lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v.55, n.10, p. 1470-1473, 1972.

IPHARRAGUERRE, I.R; CLARK, J.H. Impacts of the source and amount of crude protein on the intestinal supply of nitrogen fractions and performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p.22-37, 2005. Supplementum E.

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.

KERRY, C.M; AMOS, H.E; FROETSCHER, M.A. Effects of supplemental protein source on intraruminal fermentation, protein degradation and amino acid absorption. **Journal of Dairy Science**, v.76, n. 2, p. 514-524, 1993.

KERTZ, A. F; KOEPKE, M. K; DAVIDSON, L. E; BETZ, N. L; NORRIS, J.R.; SKOCH, L; CORDS, B. R; HOPKINS, D. T. Factors influencing intake of high urea-containing rations by lactating dairy-cows. **Journal of Dairy Science**, v.65, n.4, p. 587-604, 1982.

MENDONÇA, S. D.; CAMPOS, J. M. D.; FILHO, S. D. V.; VALADARES, R. F. D.; SOARES, C. A.; LANA, R. D.; QUEIROZ, A. C.; ASSIS, A. J.; PEREIRA, M. L. A. Intake, apparent digestibility, milk production and composition and ruminal variables of dairy cows fed sugar cane based diets. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 2, p. 481-492, 2004.

MAGALHÃES, A. L. R.; CAMPOS, J. M. S.; VALADARES FILHO, S. C.; TORRES, R. A.; MENDES NETO, J.; ASSIS, A. J. Cana-de-Açúcar em Substituição à Silagem de Milho em Dietas para Vacas em Lactação: Desempenho e Viabilidade Econômica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.5, p.1292-1302, 2004.

NOUSIAINEN, J; SHINGFIELD, KJ; 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.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**, Washington, D.C: National Academy of Science, National Academy Press, 2001.

OLIVEIRA, A.S; VALADARES, R.F.D; VALADARES FILHO, S.C; CECOM, P.R; OLIVEIRA, G.A; SILVA, R.M.N; COSTA, M.A.L. Consumo, digestibilidade aparente, produção e composição do leite de vacas alimentadas com quatro níveis de compostos nitrogenados não-protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n.4, p. 1358-1366, 2001.

OLIVEIRA, M.M.N.F; TORRES, C.A.A.A; VALADARES, S.D, SANTOS, A.D.F; PROPERI, C.P. Urea for postpartum dairy cows: Productive and reproductive performance. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p. 2266-2273, 2004.

PEREIRA, D. B. C., SILVA, P.H.F., COSTA Jr., L. C. G., OLIVEIRA, L. L. **Físico-química do leite e derivados – Métodos Analíticos**. Epamig, Juiz de Fora, 234 p, 2001.

PERES, J.R. O leite como ferramenta do monitoramento nutricional. In: González, F.D; DURR, J.W; FONTANELI, R.S. **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001. p.30-45.

PIMENTEL GOMES, F. **Curso de Estatística Experimental**. ESALQ, Piracicaba, SP, 467 p, 1985.

SANTOS, F.A.P; SANTOS, J.E.P; THEURER, C.B; SWINGLE, R.S; SIMAS, J.M; CHEN, K.H; YU, P. Milk yield and composition of lactating cows fed steam-flaked sorghum and graded concentrations of ruminally degradable protein. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n.1, p. 215-220, 1998.

SAS Institute Inc. **SAS User's guide: statistics**. Ver. 5 ed., SAS Inst., Cary, NC, 1985.

SILVA, R.M.N; VALADARES, R.F.D; VALADARES FILHO, S.C; CECOM, P.R; CAMPOS, J.M.S; OLIVEIRA, G.A; OLIVEIRA, A.S. Uréia para vacas em lactação. 1. Consumo, digestibilidade, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n.5, p. 1639-1649, 2001.

STOKES, S.R; HOOVER, W.H; MILLER, T.K; BLAUWEIKEL, R. Ruminant digestion and microbial utilization of diets varying in type of carbohydrate and protein. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n.3, p. 872-881, 1991.

VAN SOEST, P.J., ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.

WILSON, G; MARTZ, F.A; CAMPBELL, J.R; BECHER, B.A. Evaluation of factors responsible for reduced voluntary intake of urea diets for ruminants. **Journal of Animal Science**, v.41, n.5, p. 1431-1437, 1975.

CAPÍTULO 4 - EFEITO DE NÍVEIS CRESCENTES DE URÉIA NA DIETA DE VACAS EM LACTAÇÃO SOBRE A COMPOSIÇÃO DA PROTEÍNA E DA FRAÇÃO NITROGENADA NÃO PROTÉICA DO LEITE

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito de níveis crescentes de uréia na dieta de vacas em lactação sobre a composição da proteína (caseína e proteína do soro) e da fração nitrogenada não protéica (nitrogênio não protéico e nitrogênio uréico) do leite. Foram utilizadas 9 vacas Holandesas em lactação, em delineamento experimental tipo quadrado latino 3X3, com 3 tratamentos, 3 períodos e 3 quadrados. O experimento teve duração total de 63 dias divididos em 3 períodos de 21 dias. Os tratamentos foram: tratamento A (controle) com dieta formulada para suprir 100% das exigências do NRC (2001) em termos de PB, proteína degradável no rúmen (PDR), proteína não degradável no rúmen (PNDR), utilizando farelo de soja como principal fonte protéica e cana-de-açúcar como volumoso; tratamento B, dieta com a inclusão de 0,75% de uréia, e tratamento C, dieta com inclusão de 1,5% de uréia. Todas as dietas foram isoenergéticas (1,53 Mcal/kg de energia líquida de lactação) e isoprotéicas (16% de proteína bruta). Não foram observadas diferenças entre os tratamentos quando os resultados foram analisados por regressão polinomial simples, quanto a: proteína bruta, proteína verdadeira, caseína, proteína do soro, nitrogênio não caséico, nitrogênio não protéico e uréia. As relações proteína verdadeira: proteína bruta e caseína: proteína verdadeira também não foram alteradas pela substituição parcial do farelo de soja pela uréia. Estes resultados sugerem que o uso de até 1,5% de uréia na matéria seca da dieta não altera a concentração, bem como a composição da proteína do leite de vacas em meio de lactação.

Palavras-Chave: uréia, nitrogênio não protéico, nitrogênio uréico do leite, caseína, proteína do soro.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effects on milk protein composition (casein and whey protein) and non-protein nitrogen fraction in milk from 9 lactating Holstein cows given three different levels of urea included in ration. A 3X3 latin square arrangement was used, with 3 treatments, 3 periods of 21 days each and 3 squares. The treatments were: A) NRC-based (NRC, 2001) formulae to provide 100% of Crude Protein (CP), as well as, Rumen Undegradable Protein (RUP) and Rumen Degradable Protein (RDP) requirements, by using soybean meal and sugar cane; B) 0,75% urea inclusion; C) 1,5% urea inclusion. Energy and protein levels of rations comply with NRC (2001), and were isoenergetic and isoproteic. No statistical differences were observed among treatments. Results were analyzed by simple polynomial regression, in crude protein, true protein, casein, whey protein, non-casein and non-protein nitrogen and urea. The true protein:crude protein and casein:true protein ratios were not influenced by the substitution of soybean meal by urea in ration. Results lead us to conclude that the addition of urea up to 1,5% in DM fed to mid-lactation cows has no effect on milk protein yield and its composition.

Keywords: urea, non-protein nitrogen, milk urea nitrogen, casein, whey protein

4.1 Introdução

O interesse pela proteína do leite aumentou nos últimos anos devido a sua importância nutricional e econômica. Isto porque, além dos benefícios comprovados sobre a saúde humana, com influência positiva na inibição do crescimento de células neoplásicas, na prevenção de osteoporose, além de também participar em processos fisiológicos importantes (MEISEL, 2004; PEREIRA et al., 2002), exerce influência direta sobre a fabricação de derivados lácteos, especialmente o queijo (EMMONS, 2003; OLIVEIRA, 1986). Assim, para atender as exigências dos laticínios e do mercado consumidor, busca-se atualmente a obtenção de leite com maior concentração de proteína e menores teores de gordura (MEDEIROS, 2001). Dessa forma, torna-se importante conhecer a composição da porção denominada genericamente como proteína bruta (NT x 6,38).

A fração nitrogenada do leite é composta por caseína, proteínas do soro e nitrogênio não protéico (DEPETERS; CANT, 1992). As duas primeiras constituem em conjunto a proteína verdadeira do leite, sendo a caseína sintetizada dentro da glândula mamária e as proteínas do soro, sintetizadas na glândula mamária, como a β -lactoglobulina e a α -lactalbumina ou oriundas do sangue, como a albumina sérica e as imunoglobulinas (FARRELL et al., 2004). A fração nitrogenada não protéica, denominada nitrogênio não protéico, corresponde normalmente a 5-6% do nitrogênio total do leite, e cerca de 50% dela é constituída por uréia (DEPETERS; CANT, 1992).

Diversos fatores podem alterar a composição do leite: clima (ambiente), doenças do úbere, estágio de lactação, parto, raça, nutrição (DEPETERS e CANT, 1992), nível de seleção genética, sistemas de manejo e fatores fisiológicos da própria lactação (FONSECA E SANTOS, 2000).

Dentre esses fatores, o manejo e o balanceamento nutricional são um dos mais importantes. O consumo de matéria seca, a qualidade e digestibilidade da fibra, o balanço

entre energia e proteína, o tamanho das partículas do alimento, a densidade, a frequência de alimentação (GRANT, 1990) e a fonte de nitrogênio da dieta (SANTOS e HUBER, 1996) podem levar a modificações na composição do leite. Este último fator é particularmente importante na determinação da concentração da proteína láctea. Assim, alguns trabalhos foram realizados para verificar a influência da fonte de nitrogênio dietético sobre a proteína do leite (BLOCK, 2000; CAMERON, 1991; CARMO et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2001; SILVA, 2001), mas poucos estudam o efeito dessas fontes sobre a composição dessa proteína (BAKER et al., 1995, ROSELER et al., 1993).

O objetivo geral do presente estudo foi determinar o efeito de níveis crescentes de uréia na dieta de vacas em lactação (0%, 0,75%, 1,5%) sobre a concentração e a composição da fração nitrogenada do leite. Os objetivos específicos foram determinar o efeito da substituição parcial do farelo de soja por uréia (nos níveis de 0%, 0,75% e 1,5%) sobre a concentração láctea de proteína bruta (%), nitrogênio não protéico (%), nitrogênio não caseinoso (%), proteína verdadeira (%), caseína (%), proteínas do soro (%), uréia (mg/dl), bem como sobre as relações entre proteína verdadeira:proteína bruta e caseína:proteína verdadeira.

4.2 Materiais e Métodos

4.2.1 Delineamento experimental e seleção das vacas

Foi utilizado o delineamento tipo quadrado latino 3X3, com 3 tratamentos, 3 períodos de 21 dias (totalizando 63 dias) e 3 quadrados (PIMENTEL GOMES, 1985), sendo respeitado um período de adaptação de 17 dias, com coleta de amostras de leite nos 4 últimos dias de cada período (Tabela 6):

Tabela 6 - Delineamento em quadrado latino 3x3, composto por 3 quadrados.

Período	Quadrado 1			Quadrado 2			Quadrado 3		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
I	A	B	C	A	B	C	A	B	C
II	B	C	A	C	A	B	B	C	A
III	C	A	B	B	C	A	C	A	B

Quinze dias antes do início do experimento, amostras de leite dos 45 animais do rebanho leiteiro da PCAPS foram coletadas e analisadas quanto a contagem de células somáticas e composição, de acordo com a metodologia de citometria fluxométrica no equipamento Somacount 500 (Bentley Instruments Inc. Chasca, MN, USA). Foram selecionadas vacas em bom estado de saúde, que apresentavam CCS inferior a 300.000 cel/ml e composição do leite normal. Foi adotado o regime de duas ordenhas diárias, sendo uma realizada no período da manhã (7 horas) e a outra no período da tarde (15 horas).

Foram utilizadas 9 vacas adultas (> 2ª lactação) da raça Holandesa, do 2º ao 7º mês de lactação com peso vivo médio de 560 kg. Os animais foram alojados no Estábulo Experimental da Prefeitura do Campus Administrativo de Pirassununga (PCAPS-USP), cujas instalações contam com baias individuais com cochos de cimento, que possibilitaram a avaliação do consumo de alimentos, bebedouros automáticos comuns a cada 2 animais e ventiladores de teto.

4.2.2- Tratamentos experimentais

Os tratamentos foram correspondentes às dietas fornecidas às vacas em lactação, as quais foram divididas em 3 grupos de 3 animais cada, e submetidas a um dos tratamentos a seguir (Tabela 7):

A) 0% de uréia (controle) na matéria seca, com dieta formulada para suprir 100%

das exigências de NRC (2001) em termos de proteína bruta (PB), proteína degradável no rúmen (PDR), PNDR (proteína não degradável no rúmen), utilizando farelo de soja como fonte protéica e cana-de-açúcar como volumoso;

B) 0,75% de uréia, com dieta formulada para atender 100% das exigências do NRC (2001) em termos de PB, com inclusão de 0,75% de uréia na matéria seca e manutenção do nível de PB da dieta controle e cana-de-açúcar como volumoso;

C) 1,5% de uréia, com dieta formulada para atender 100% das exigências do NRC (2001) em termos de PB, com inclusão de 1,5% de uréia e manutenção do nível de PB da dieta controle e cana-de-açúcar como volumoso.

Todas as dietas formuladas eram isoprotéicas, contendo 16% de proteína bruta na matéria seca e isoenergéticas, com 1,53 Mcal/kg de energia líquida para lactação. As dietas foram fornecidas na forma de mistura completa, 2 vezes ao dia (após as ordenhas da manhã e da tarde) e visava permitir 5 % de sobras. Diariamente, foi registrada a produção diária das ordenhas, ocorrência de doenças metabólicas, incidência de mastite clínica e consumo de alimentos.

Tabela 7 - Proporções de ingredientes utilizados e composição bromatológica das dietas, com base na matéria seca.

Ingredientes	Tratamentos (M.S., %)		
	0% uréia	0,75% uréia	1,5% uréia
Cana de açúcar (%)	43,35	41,45	39,50
Milho grão, moído (%)	28,12	34,72	41,33
Farelo de Soja 44 (%)	25,70	20,17	14,61
Uréia 45% N (%)	0	0,75	1,50
Fosfato bicálcico (%)	0,39	0,50	0,62
Calcário calcítico (%)	0,94	0,94	0,94
Sal branco (%)	0,50	0,50	0,5
Mistura mineral ¹ (%)	1,00	1,00	1,00
Composição			
MS (%)	61,82	63,85	64,03
PB (%)	16,17	16,33	16,21
Proteína degradável (% da PB)	66,60	69,63	72,65
Proteína não degradável (% a PB)	33,40	30,37	27,35
Uréia	0	0,75	1,5
FDA (%)	21,80	20,48	19,41
FDN (%)	31,76	30,34	29,56
EE (%)	5,22	5,03	5,13
Cálcio (%)	0,72	0,72	0,80
Fósforo (%)	0,46	0,44	0,45
Energia líquida de lactação (Mcal/kg)	1,53	1,53	1,53
Matéria Mineral ¹	4,91	4,70	4,30

PB= proteína Bruta, FDA= Fibra Detergente Ácido, FDN= Fibra Detergente Neutro, EE= Extrato Etéreo. ¹Composição por kg de mistura mineral: 180g Ca, 90g P, 20g Mg, 20g S, 100g Na, 3.000mg Zn, 1.000mg Cu, 1.250mg Mn, 2.000mg Fe, 200mg Co, 90mg I, 36mg Se, 900mg F (máximo).

4.2.3 Coleta de amostras e metodologias de análise

Durante os quatro últimos dias de cada um dos três períodos experimentais foi realizada a coleta das amostras de leite. A coleta ocorreu nas duas ordenhas diárias e foi proporcional a produção de leite (60% correspondente à ordenha da manhã e 40% à ordenha da tarde). As amostras de leite foram analisadas, em duplicata, quanto à uréia (mg/dl), nitrogênio total, nitrogênio não caseinoso e nitrogênio não protéico. As concentrações de proteína verdadeira, caseína, proteínas do soro e relações entre proteína verdadeira:proteína total e caseína:proteína verdadeira, foram obtidas por métodos de cálculo.

4.2.3.1 Determinação da concentração de uréia no leite

As amostras compostas de leite foram coletadas em frascos plásticos contendo o conservante bromopol e enviadas para o Laboratório Clínica do Leite – Departamento de Produção Animal da ESALQ-USP (Piracicaba-SP), para mensuração da concentração de uréia (mg/dl) pelo método colorimétrico-enzimático no equipamento ChemSpec 150 (Bentley Instruments Inc. Chasca, MN, USA).

4.2.3.2 Determinação do nitrogênio total (NT)

A concentração de nitrogênio total da dieta foi determinada utilizando-se o método de referência para a determinação da concentração de proteína no leite e em derivados lácteos, baseado na mensuração do N total pelo método de Kjeldahl, conforme metodologia descrita pela AOAC (1990); (método número 33.2.11; 991.20). O N foi então multiplicado por um fator (6,38), para que os resultados fossem expressos em proteína total ou proteína bruta (BARBANO E CLARK, 1990).

4.2.3.3 Metodologia para determinação do nitrogênio não-caseinoso (NNC)

As frações de NNC e de caseína do leite foram determinadas através de metodologia descrita por Lynch e Barbano (1998). Resumidamente, 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.

4.2.3.4 Metodologia para determinação do nitrogênio não protéico

Para a determinação de nitrogênio não protéico foi necessária uma preparação prévia da amostra de leite, utilizando a adição de solução de ácido tricloroacético a 15%, que causou coagulação de todas as proteínas do leite. As proteínas coaguladas foram removidas através da filtração, sendo que o líquido filtrado pôde então ser submetido à determinação da concentração de nitrogênio pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1995; método número 33.2.12; 991.21).

4.2.3.5 Metodologia para determinação da concentração de proteína verdadeira e caseína e proteína do soro do leite

Após a determinação da concentração de NNP, fez-se a subtração deste resultado pelo da concentração de NT e desta forma pôde-se determinar a concentração de proteína verdadeira. Já a concentração de caseína foi determinada a partir da subtração da concentração do NNC em relação ao nitrogênio total. A proteína do soro foi determinada a partir da subtração do valor de caseína da proteína verdadeira do leite.

4.2.4 Análise estatística

Para as variáveis correspondentes ao leite cru foi utilizada a média dos dados obtidos durante os 4 dias para cada vaca, excluindo-se as perdas de amostrais (8 amostras em 108). Todos os resultados foram analisados pelo programa computacional Statistical Analysis System (SAS Institute, Inc; 1985), após verificação da normalidade dos resíduos pelo teste de SHAPIRO-WILK (PROC UNIVARIATE) e da homogeneidade das variâncias pelo teste F. Posteriormente, os resultados foram submetidos às análises de variância e regressão polinomial simples, utilizando como fontes de variação o tratamento, animal (dentro de quadrado), período e quadrado (PROC GLM). Foi considerado um nível de significância de 5% para todos os testes realizados.

4.3 Resultados e discussão

As médias referentes à proteína bruta (%), NNP (%), NNP (%PB), NNC (%), NNC (%PB), PV (%), PV (%PB), Caseína (%), Caseína (% PB), relação caseína: proteína verdadeira, proteína do soro (%), proteína do soro (%PB) e uréia, bem como o coeficiente de variação e as probabilidades de efeito linear (L) e desvio (D), estão apresentados na tabela 8:

Tabela 8 - Médias, coeficiente de variação (CV) e probabilidade dos efeitos linear (L) e desvio (D) para proteína bruta (%), NNP (%), NNP (%PB), NNC (%), NNC (%PB), PV (%), PV (%PB), caseína (%), caseína (% PB), relação caseína: proteína verdadeira, proteína do soro (%), proteína do soro (%PB) e uréia em função dos níveis crescentes de uréia.

VARIÁVEL	N	TRATAMENTOS (% uréia)			Média	CV	p	
		0	0,75	1,5			L	D
PB (%)	100	3,39	3,20	3,27	3,28	11,78	NS	NS
NNP (%)	100	0,26	0,26	0,26	0,26	9,99	NS	NS
NNP (% PB)	100	7,68	8,07	8,04	7,93	16,22	NS	NS
NNC (%)	100	0,68	0,72	0,74	0,74	13,89	NS	NS
PV (%)	100	3,13	2,95	3,02	3,04	12,81	NS	NS
PV (%PB)	100	92,32	91,93	91,96	92,07	1,40	NS	NS
Caseína (%)	100	2,65	2,48	2,53	2,55	12,88	NS	NS
Caseína (%PB)	100	79,55	77,27	77,23	77,99	3,13	NS	NS
Caseína/PV	100	0,86	0,84	0,84	0,85	3,22	NS	NS
PS (%)	100	0,43	0,47	0,49	0,46	22,13	NS	NS
PS (%PB)	100	12,77	14,65	14,73	14,08	18,30	NS	NS
Uréia (mg/dl)	100	17,97	17,28	17,48	17,56	16,59	NS	NS

A concentração de proteína bruta do leite não sofreu influência dos níveis crescentes de uréia na dieta. Estes resultados concordam com os obtidos por Christensen; Lynch e Clark (1993), que avaliaram diferentes concentrações e degradabilidade da proteína dietética sobre as características de composição e de produção do leite; com Carmo (2001), que utilizou 2% de uréia na dieta de vacas em final de lactação e com Cameron et al. (1991), que avaliaram os efeitos da adição de uréia e do amido na fermentação ruminal, no fluxo de nutrientes para o duodeno e no desempenho de vacas multíparas em meio de lactação. No entanto, divergem de Oliveira et al. (2001) e Silva et al. (2001), que observaram efeito linear negativo da concentração de uréia na dieta (0%, 0,70%, 1,4% e 2,1%) sobre a porcentagem de proteína no

leite, provavelmente devido à diminuição no consumo de matéria seca das vacas, observado nesses dois experimentos. O aumento na produção de proteína láctea a partir da adição de uréia na dieta foi relatado por Susmel (1995). Neste caso, a suplementação de uréia levaria ao aumento na síntese de proteína microbiana, com efeitos benéficos sobre a produção de leite e pequenas alterações na concentração da proteína.

Quanto à composição da proteína do leite, no presente estudo não foram encontradas diferenças significativas para a porcentagem de caseína, proteína do soro e nitrogênio não protéico, em função dos níveis de uréia da dieta. Muitos trabalhos foram realizados para avaliar os efeitos do uso de uréia como fonte de nitrogênio não protéico e de diferentes taxas de degradabilidade da proteína dietética sobre as características de produção e de composição, mas poucos estudos na literatura relacionam seus efeitos sobre a composição da proteína do leite. Os resultados do presente experimento diferem dos obtidos por Reynal e Broderick (2005), que ao avaliarem o efeito de quatro níveis de proteína degradável no rúmen (13,2%, 12,3%, 11,7% e 10,6%) na matéria seca das dietas de vacas em meio de lactação, observaram efeito linear positivo dos níveis sobre a porcentagem de proteína verdadeira do leite. Isto significa que, diminuindo a porcentagem de proteína degradável no rúmen, há aumento na concentração na proteína verdadeira do leite.

No presente trabalho, a substituição do farelo de soja por uréia gerou a obtenção de dietas com 10,65%, 11,14% e 11,62% de PDR, para os tratamentos de 0%, 0,75%, e 1,5%, respectivamente. Com esses níveis de PDR, não foi possível observar diferença significativa dos tratamentos sobre a concentração de proteína verdadeira. No entanto, quando Reynal e Broderick (2005) avaliaram a produção de proteína do leite, observaram efeito quadrático com produção máxima obtida no nível 12,3%. Porém, a eficiência de utilização do nitrogênio decresceu linearmente, enquanto a excreção cresceu em resposta ao aumento dos níveis de proteína degradável no rúmen. Estes resultados mostram que a determinação da porcentagem

ideal de proteína degradável no rúmen para vacas em meio de lactação é dependente da eficiência do uso do nitrogênio. Assim, apesar de a produção máxima ser obtida com 12,3% de proteína degradável, pode ser interessante utilizar 11,7% ao considerar os fatores supracitados. Esses valores são superiores aos recomendados pelo NRC (2001), que é de 9,2% de PDR na MS da dieta. Os resultados obtidos no presente estudo também diferem dos obtidos por Roseler et al. (1993), que observaram que produção de proteína verdadeira poderia ser aumentada a partir da utilização de fontes de proteína não degradável.

Em relação à concentração de caseína, os resultados obtidos neste estudo, concordam com os obtidos por Bateman (1999) que comparou o uso da uréia e do farelo de soja com fontes de proteína não degradável associada a aminoácidos protegidos, em dietas utilizando feno de alfafa como volumoso, em que não foram verificadas diferenças significativas na concentração de caseína do leite. No entanto, os resultados do presente trabalho, discordam de estudos realizados com cabras (SAMPELAYO et al; 1998; SAMPELAYO et al., 1999) em que a fração degradável da proteína, se mostrou a principal responsável na determinação das concentrações de proteína, especialmente caseína.

A relação proteína verdadeira:proteína total, assim como a relação caseína: proteína verdadeira, também não foi afetada pela concentração de uréia da dieta. Estes resultados concordam com os obtidos por Coulon (1998) que não verificou diferença do uso fontes de nitrogênio sobre essas relações.

As concentrações de uréia do leite (mg/dl) obtidas no presente estudo, estão dentro dos limites preconizados para vacas Holandesas em lactação (TORRENT, 2000), 12-18 mg/dl, e, não foram alteradas significativamente pelas concentrações de uréia na dieta. Estes resultados discordam dos obtidos por Baker et al. (1995), que ao estudarem diferentes taxas de degradabilidade e relações PDR e PNDR na dieta de vacas em lactação, observaram efeitos

significativos não só na concentração, como no tipo e na qualidade da proteína sobre as concentrações de NUL e proteína verdadeira do leite.

Os resultados obtidos mostram que o uso de uréia como substituição parcial ao farelo de soja, uma estratégia nutricional bastante utilizada no Brasil, poderia ser usada sem prejuízo de características produtivas e de composição do leite. A cana-de-açúcar oferecida como volumoso único na dieta, pode ser usada para vacas em meio de lactação, onde a exigência nutricional não é máxima, sem causar prejuízos à produção e a composição do leite.

Atualmente, o estudo dos efeitos de fontes de NNP sobre a composição da proteína do leite assume importância, pelo papel nutricional e econômico que ela desempenha. A caseína, além de ser uma proteína de alto valor biológico, é a principal responsável pelo rendimento de fabricação de queijos. A busca por leite com maior concentração de proteína verdadeira para atender as novas exigências do mercado consumidor e dos laticínios, torna fundamental a realização de um maior número de trabalhos de pesquisa que estudem a influência do uso de nitrogênio não protéico, como a uréia, e de diferentes níveis, porcentagens de proteína degradável e relações PDR:PNDR sobre a composição da proteína do leite. Assim, o presente trabalho permite concluir que o uso de uréia na alimentação de vacas leiteiras em terço intermediário de lactação, em que a exigência nutricional não é máxima, pode ser adotado como estratégia nutricional.

4.4 Conclusões

Com base nos resultados obtidos no presente estudo é possível concluir que a inclusão de 1,5% de uréia na matéria seca da dieta de vacas em meio de lactação não altera a composição da proteína do leite, bem como a fração nitrogenada não protéica. As concentrações de caseína e de proteínas do soro não são influenciadas pelo uso de fontes de nitrogênio não protéico, como a uréia, até os limites de 1,5% de inclusão na MS. Da mesma forma, a porcentagem de nitrogênio não protéico e a concentração de nitrogênio uréico no leite, em mg/dl, não sofrem efeitos do uso de até 1,5% de uréia na dieta de vacas leiteiras.

4.5 Referências bibliográficas

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, I. **Official Methods of Analysis**. Arlington, VA. 16 ed, 1995.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. Arlington, VA. 11.ed. Washington, 1990. 1050p.

BAKER, L.D; FERGUNSON, J.D; CHALUPA, W. Responses in urea and true protein feeding schemes for protein of milk to different dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.78, n. 11, p. 2424-2434, 1995.

BARBANO, D.M., CLARK, J.L. Kjeldahl method for determination of total nitrogen content of milk: collaborative study. **Journal AOAC International**. v.73, p.849-859, 1990.

BATEMAN, 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 Dairy Science** 82:2115-2120, 1999.

BENTLEY INSTRUMENTS: **Bentley 2000**: operator's manual. Chasca, 1995.

BENTLEY INSTRUMENTS: **Somacount 500**: operator's manual, Chasca, 1995.

BLOCK, E. Nutrição de vacas leiteiras e composição do leite. In: II Simpósio Internacional sobre Qualidade do leite. P. 85-88, Curitiba, Paraná, 2000.

CAMERON, M.R; KLUSMEYER, T.H; LYNCH, G.L; CLARK, J.H; NELSON, D. R. Effects of urea and starch on rumen fermentation, nutrient passage to the duodenum, and performance of cows. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n.4, p.1321-1336, 1991.

CARMO, C.A. **Substituição do farelo de soja por uréia ou amiréia em dietas para vacas leiteiras em final de lactação**. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, 74p. 2001.

CHRISTENSEN, R.A; LYNCH, G.L; CLARCK, J.H; YU, Y. Influence of amount and degradability of protein on production of milk and milk components by lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n.11, p. 3490-3496, 1993.

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.

DEPETERS, E.J; CANT, J.P. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk- a review. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n.8, p. 2043-2070, 1992.

EMMONS, D.B; DUBÉ, C; MODLER, H.W. Transfer of protein from milk to cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. p. 49-485, 2003.

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, p. 1641-1674, 2004.

FONSECA, L. F. L., SANTOS, M. V. Qualidade do Leite e Controle de Mastite. São Paulo: Lemos Editorial, 176 p. 2000.

GRANT RJ, COLENBRANDER VF, MERTENS DR. Milk-fat depression in dairy-cows - role of silage particle-size. **Journal of Dairy Science**. v.73, p.1834-1842, 1990.

LYNCH, J. M., BARBANO, D. M. Indirect and direct determination of the casein content of milk by Kjeldahl nitrogen analysis: collaborative study. **Journal AOAC International**. v.81, p.763-774, 1998.

MEDEIROS, S.R; GAMA, M.A.S; LANNA, D.P. Influência da nutrição animal na qualidade do leite e de produtos lácteos. In: VILELA, D; MARTINS, C.E; BRESSAN, M; CARVALHO, L.A. (Ed.) **Sustentabilidade da pecuária de leite no Brasil : qualidade e segurança alimentar**. Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, p. 17-38, 2001.

MEISEL, H. Multifunctional peptides encrypted in milk proteins. **Biofactors**, v. 21, n. 1-4, p. 55-61, 2004.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**, Washington, D.C: National Academy of Science, National Academy Press, 2001.

OLIVEIRA, A.S; VALADARES, R.F.D; VALADARES FILHO, S.C; CECON, P.R; OLIVEIRA, G.A; SILVA, R.M.N; COSTA, M.A.L. Consumo, digestibilidade aparente, produção e composição do leite de vacas alimentadas com quatro níveis de compostos nitrogenados não-protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n.4, p. 1358-1366, 2001.

OLIVEIRA, J.S. **Queijo: Fundamentos Tecnológicos**. Campinas: Cone, 1986, 146 p.

PEREIRA, M.A; JACOBS, D.R, VAN HORN, L; SLATTERY, M.L; KARTASHOV, A.I; LUDWIG, D.S. Dairy consumption, obesity, and the insulin resistance syndrome in young adults- The CARDIA study. **Journal of the American Medical Association**, v. 16, n. 16, p. 2081-2089, 2002.

PIMENTEL GOMES, F. **Curso de Estatística Experimental**. ESALQ, Piracicaba, SP, 467 p, 1985.

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.

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, p. 525-534, 1993.

SAMPELAYO, M.R.S; AMIGO, L; ARES, J.L; SANZ, B; BOZA, J. The use of diets with different protein sources in lactating goats: composition of milk and its suitability for cheese production. **Small Ruminant Research**., v. 31, n.1, p. 37-43, 1998.

SAMPELAYO, M.R.S; PEREZ, M.L; EXTREMERA, F.G; BOZA, J.J; BOZA, J. Use of different dietary protein sources for lactating goats: milk production and composition as functions of protein degradability and amino acid composition. **Journal of Dairy Science**., v. 82, n.3, p. 555-565, 1999.

SANTOS, F.P.; HUBER, J. T. Quality of bypass protein fed to high-producing cow is important. **Feedstuffs**. p.12-15, 1996.

SANTOS, F.A.P; HUBER, J.T; THEURER, C.B; SWINGLE, R.S; SIMAS, J.M; CHEN, K.H; YU, P. Milk yield and composition of lactating cows fed steam-flaked sorgum and graded concentrations of ruminally degradable protein. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 215-220, 1998.

SAS Institute Inc. **SAS User's guide: statistics**. Ver. 5 ed., SAS Inst., Cary, NC, 1985.

SILVA, R.M.N; VALADARES, R.F.D; VALADARES FILHO, S.C; CECON, P.R; CAMPOS, J.M.S; OLIVEIRA, G.A; OLIVEIRA, A.S. Uréia para vacas em lactação. 1. Consumo, digestibilidade, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n.5, p. 1639-1649, 2001.

SUSMEL, P.; SPANGHERO, M.; STEFANON, B. Nitrogen balance and partitioning of some nitrogen catabolites in milk and urine of lactating cows. **Livestock Production Science**, v. 44, n. 3, p. 207-209, 1995.

TORRENT, J. Nitrogênio uréico no leite e qualidade do leite. In: II Simpósio Internacional sobre Qualidade do Leite. p. 27-29, Curitiba, PR, 2000.

CAPÍTULO 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pode-se concluir a partir da realização do presente estudo, que a inclusão de até 1,5% de uréia na dieta de vacas em lactação, não altera a produção, as características físico-químicas e de composição do leite, bem como a composição da proteína do leite. Quanto à composição da proteína o uso de níveis crescentes de uréia, até o limite de 1,5% na matéria seca da dieta, não altera a concentração de proteína verdadeira, caseína, proteína do soro, bem como as relações proteína verdadeira: proteína bruta e caseína:proteína verdadeira. As concentrações de nitrogênio não protéico e nitrogênio uréico do leite também não sofrem influências até esse limite de inclusão.