

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**GLICERINA BRUTA E UREIA DE LIBERAÇÃO LENTA
NA ALIMENTAÇÃO DE BOVINOS DE CORTE**

Autor: Román David Castañeda Serrano
Orientador: Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco

MARINGÁ
Estado do Paraná
2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**GLICERINA BRUTA E UREIA DE LIBERAÇÃO LENTA
NA ALIMENTAÇÃO DE BOVINOS DE CORTE**

Autor: Román David Castañeda Serrano
Orientador: Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco

“Tese apresentada, como parte das exigências para a obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração: Produção Animal.”

MARINGÁ
Estado do Paraná
2011

"É melhor tentar e falhar,
que preocupar-se e ver a vida passar;
é melhor tentar, ainda que em vão,
que sentar-se fazendo nada até o final.

Eu prefiro na chuva caminhar,
que em dias tristes em casa me esconder.

Prefiro ser feliz, embora louco,
que em conformidade viver ..."

Martin Luther King

Aos meus pais,

Julio Castañeda Perez e Carmen Rosa Serrano Cely,

pela vida, amor, apoio e dedicação incondicional sempre.

Aos meus irmãos,

Marlon Julian, Sergio Giovanni, Cristian Santiago e Natalia,
pela amizade e motivação.

As minhas cidades,

Corrales – Boyacá e Ibagué – Tolima na Colômbia, e Maringá no Brasil,
porque são meu lar e estão no meu coração.

E de maneira especial, a minha esposa e minha filha Maringaense,

Lina Maria Peñuela Sierra e Valeria Castañeda Peñuela,
porque são a razão de meu ser e motivo de minha inspiração.

DEDICO...

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar de meu lado sempre, por me iluminar nos momentos difíceis, e por me fazer tomar as decisões certas.

Ao Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco, pela orientação nestes últimos seis anos, pelos conselhos, pela confiança depositada e por ser exemplo de honestidade e integridade em nível pessoal e profissional.

À Universidade Estadual de Maringá e à Fazenda Experimental de Iguatemi, por me dar a possibilidade de realizar este trabalho.

Ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia e seus professores, pelos ensinamentos que permanecerão comigo, por toda a vida.

Ao Governo Brasileiro e seu programa PEC-PG, por meio da Embaixada brasileira na Colômbia, pela concessão da bolsa de estudos.

Aos grandes amigos brasileiros, por me receber da melhor maneira nesta terra.

Ao Julio Barreto, Silvana Teixeira, Milene Osmari, Altair Sofiati, Bruna Marsiglio, Tatiana Garcia, e demais membros do grupo, pela amizade, companheirismo e ajuda sem as quais não seria possível a realização deste trabalho.

Aos funcionários da Secretaria do PPZ, aos funcionários da FEI e aos funcionários do Laboratório (Denílson, Rose, Wilson, Cleusa, Creuza e Augusto).

BIOGRAFIA

ROMÁN DAVID CASTAÑEDA SERRANO, filho de Julio Castañeda Perez e Carmen Rosa Serrano Cely, nasceu no município de Corrales, Departamento de Boyacá, Colômbia, no dia 11 de setembro de 1982.

Em dezembro de 1999, concluiu estudos secundários, recebendo o título de Técnico Agropecuário, pelo Instituto Técnico Agrícola de Paipa.

Em janeiro de 2006, concluiu o curso de graduação em Medicina Veterinária e Zootecnia pela Universidad Del Tolima, Ibagué - Colômbia.

Em março de 2006, iniciou no Programa de Pós-graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, área de concentração: Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de Nutrição de Ruminantes.

No dia 30 de abril de 2008, defendeu sua Dissertação, obtendo o título de Mestre em Zootecnia, pela Universidade Estadual de Maringá.

Em maio de 2008, voltou para Colômbia onde trabalha como Professor colaborador na área de Produção de Ruminantes na Universidad Del Tolima.

Em março de 2009, iniciou no Programa de Pós-graduação em Zootecnia, em nível de Doutorado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de Nutrição de Ruminantes.

Submeteu-se, o dia 25 de novembro de 2011, à banca de defesa da Tese.

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE TABELAS	viii
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xii
I - INTRODUÇÃO GERAL	01
1. Importância do biodiesel.....	01
2. Importância da glicerina bruta.....	03
2.1. Metabolismo do glicerol	04
2.2. Utilização da glicerina bruta em ruminantes.....	05
3. Nitrogênio não-proteico (NNP) para ruminantes	07
3.1. Utilização de NNP de liberação lenta em ruminantes	07
OBJETIVOS GERAIS	13
II – SUBSTITUIÇÃO DO MILHO PELA GLICERINA BRUTA NA DIETA DE BOVINOS DE CORTE E EFEITOS SOBRE A DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES, SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA, FERMENTAÇÃO E CINÉTICA RUMINAL	
Resumo	14
Abstract.....	15
Introdução	16
Material e Métodos.....	17
Resultados e Discussão.....	21
Conclusões.....	28
Referências.....	28

III – EFEITOS DA SUBSTITUIÇÃO DA UREIA POR UREIA DE LIBERAÇÃO LENTA EM DIETAS DE BOVINOS DE CORTE SOBRE A DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES, SÍNTESE MICROBIANA, FERMENTAÇÃO E CINÉTICA RUMINAL

Resumo	32
Abstract.....	33
Introdução	34
Material e Métodos.....	35
Resultados e Discussão.....	39
Conclusões	46
Referências.....	46

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
II – SUBSTITUIÇÃO DO MILHO PELA GLICERINA BRUTA NA DIETA DE BOVINOS DE CORTE SOBRE A DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES, SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA, FERMENTAÇÃO E CINÉTICA RUMINAL	14
TABELA 1 – Composição química dos alimentos utilizados nas dietas experimentais (%).....	17
TABELA 2 – Composição percentual e química das dietas experimentais.....	18
TABELA 3 – Ingestão (ING), fluxo omasal (FO), fluxo fecal (FF), coeficiente de digestibilidade aparente ruminal (CDR), intestinal (CDI) e total (CDT) da MS, MO, PB, FDNcp, EE e CNF em resposta à glicerina bruta na dieta de bovinos... ..	22
TABELA 4 – Ponto crítico (horas:minutos) e valores do pH e N-NH ₃ no líquido ruminal no período de 0 a 8h após a primeira alimentação em resposta à glicerina bruta na dieta de bovinos	24
TABELA 5 – Cinética ruminal em bovinos alimentados com glicerina bruta.....	26
TABELA 6 – Eficiência de síntese de proteína microbiana no rúmen em bovinos alimentados com glicerina bruta.....	27
III – EFEITOS DA SUBSTITUIÇÃO DA UREIA POR UREIA DE LIBERAÇÃO LENTA EM DIETAS DE BOVINOS DE CORTE SOBRE A DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES, SÍNTESE MICROBIANA, FERMENTAÇÃO E CINÉTICA RUMINAL.....	32

TABELA 1 – Composição química dos alimentos utilizados nas dietas experimentais (%).....	36
TABELA 2 – Composição percentual e química das dietas experimentais.....	36
TABELA 3 – Ingestão (ING), fluxo omasal (FO), fluxo fecal (FF), coeficiente de digestibilidade aparente ruminal (CDR), intestinal (CDI) e total (CDT) da MS, MO, PB, FDN _{cp} , EE e CNF em bovinos consumindo dietas com ureia de liberação lenta em substituição à ureia.....	41
TABELA 4 – Ponto crítico (horas:minutos) e valores do pH e N-NH ₃ no líquido ruminal no período de 0 a 8h após a primeira alimentação em bovinos consumindo dietas com ureia de liberação lenta em substituição à ureia.....	42
TABELA 5 – Cinética ruminal em bovinos consumindo dietas com ureia de liberação lenta em substituição à ureia.....	44
TABELA 6 – Eficiência de síntese de proteína microbiana no rúmen em bovinos consumindo dietas com ureia de liberação lenta em substituição à ureia.....	45

RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos do fornecimento da glicerina bruta (GB) e da ureia de liberação lenta (ULL) em dietas para bovinos de corte, sobre a ingestão de matéria seca (IMS), coeficiente de digestibilidade aparente total, ruminal e intestinal dos nutrientes, síntese de proteína microbiana, fermentação e cinética ruminal. O delineamento experimental utilizado nos experimentos foi o quadrado latino, com períodos experimentais de 21 dias. No primeiro experimento, foram utilizados cinco novilhos da raça Nelore (522 kg \pm 43 kg). Os tratamentos consistiram em níveis crescentes de GB: 0, 3, 6, 9 e 12% em base na matéria seca total da dieta. A IMS, coeficiente de digestibilidade aparente ruminal (CDR), coeficiente de digestibilidade aparente intestinal (CDI) e coeficiente de digestibilidade aparente total (CDT), da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e carboidratos não fibrosos (CNF) não foram influenciados ($P>0,05$) pelos tratamentos. Porém, o fluxo fecal do extrato etéreo (EE) foi menor ($P<0,05$), e os CDI e CDT do EE foram maiores ($P<0,05$) à medida que aumentou o percentual de GB na dieta. A inclusão de diferentes níveis de GB não influenciou ($P>0,05$) a síntese de proteína microbiana e cinética ruminal. O pH_{mín}, pH médio, N-NH₃max e N-NH₃ médio diminuíram linearmente a medida que aumentou o nível de GB na dieta. De acordo com os resultados obtidos neste estudo conclui-se que é possível utilizar a glicerina bruta na dieta de bovinos de corte em até 12% da composição da dieta, com base na matéria seca. No segundo experimento foram utilizados quatro novilhos da raça Nelore (565 kg \pm 45 kg). Os tratamentos consistiram em substituir a ureia pela ureia de liberação lenta (ULL = Optigen[®]II) na dieta: 0ULL= 100% ureia; 33ULL= 66% ureia e 33% Optigen[®]II; 66ULL= 33% ureia e 66% Optigen[®]II e 100ULL= 100% Optigen[®]II. A IMS, CDT, CDR e CDI da MS, PB, e CNF

não foram influenciados ($P>0,05$) pelos tratamentos. O fluxo ruminal da MS, MO e PB foram menores ($P<0,05$), e o CDR da FDN maior à medida que aumentou o nível de Optigen[®]II na dieta. A substituição da ureia pelo Optigen[®]II não mostrou diferença ($P>0,05$) na síntese de proteína microbiana, fermentação e cinética ruminal. De acordo com os resultados obtidos neste estudo a utilização da ULL na dieta de bovinos de corte melhorou apenas a digestibilidade aparente ruminal da FDNcp.

Palavras-chave: coprodutos, gado de corte, glicerol, ruminantes, ureia protegida

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate the effects of crude glycerin (CG) and slowly release urea (SRU, Optigen[®]II) in cattle diets on nutrient digestibility, rumen microbial protein synthesis, and rumen fermentation and kinetic in steers. The experimental design was a Latin square, and experimental periods lasted 21 days. In the first experiment, five Nelore steers (522±43 kg) were used, and treatments were: 0, 3, 6, 9 e 12% of CG based on the total dry matter diet. Dry matter intake (DMI), ruminal apparent digestibility (RDC), intestinal apparent digestibility (IDC), and total apparent digestibility coefficient (TDC) of dry matter (DM), organic matter (OM), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF) and non-fiber carbohydrates (NFC) were not affected ($P>0.05$) by treatments. However, fecal flow of ether extract (EE) was lower ($P<0.05$) and the IDC and TDC of EE was higher ($P<0.05$) as the level of CG increased. The inclusion of different levels of CG showed no difference ($P>0.05$) in microbial protein synthesis and ruminal kinetics. The min pH, average pH, max $\text{NH}_3\text{-N}$ and average $\text{NH}_3\text{-N}$ decreased linearly ($P<0.05$) as the level of CG in the diet increased. According to results obtained in this study, CG may be used in cattle diets up to 12% on diet dry matter in replacement of corn without affecting the studied parameters. In the second experiment four Nelore steers (565±45 kg) were used, and treatments consisted in replacement of urea by SRU (Optigen[®]II), as following: 0 SRU= 100% urea; 33SRU= 66% urea e 33% Optigen[®]II; 66SRU= 33% urea e 66% Optigen[®]II and 100SRU= 100% Optigen[®]II. The DMI, RDC, IDC and TDC of DM, CP and NFC were not affected ($P>0.05$) by treatments. Rumen outflow of DM, OM and CP decreased and RDC of NDF increased ($P<0.05$) as the level of Optigen[®]II in the diet increased. The replacement of urea by Optigen[®]II showed no difference ($P>0.05$) in the microbial protein synthesis, rumen fermentation and rumen kinetics. According to information

obtained in this study the use of SRU in the diet of beef cattle, only improved rumen NDF digestibility.

Key words: beef cattle, coated urea, co-products, glycerol, ruminants, slow-release NPN

I – INTRODUÇÃO

1. Importância do Biodiesel

No mundo atual a energia é um fator fundamental para o desenvolvimento dos países. Segundo Sousa et al. (2006), do total da energia consumida em todo o mundo, cerca de 90% provém de fontes fósseis. Assim, novos tipos de energia têm surgido como alternativas às fontes não-renováveis de petróleo e carvão mineral.

O biodiesel é definido como um mono-alquil éster de ácidos graxos, obtido pela transesterificação de óleos vegetais com alcoóis, metanol ou etanol, por meio da catálise básica com NaOH ou KOH; ou ainda pela esterificação desses materiais na presença de catalisadores ácidos, com conseqüente transformação dos triglicerídeos em moléculas menores de ésteres de ácidos graxos, tendo como coproduto a glicerina bruta (Thompson & He, 2006).

O processo de produção do biodiesel segue as seguintes etapas: 1) preparação da matéria-prima, 2) reação de transesterificação, 3) separação de fases, 4) recuperação, 5) desidratação do álcool e 6) purificação da glicerina e do biodiesel.

Com relação à importância do biodiesel no cenário atual, destaca-se sua contribuição para a conservação do meio ambiente, por diminuir o efeito estufa por meio da menor emissão de gases (Carvalho, 2011). Além disso, pela ausência de enxofre em sua composição, sua queima não provoca emissão de óxidos de enxofre (SO₂ e SO₃), que são considerados poluentes e responsáveis pela chuva ácida (Mota et al., 2009).

Deve-se, ainda, levar em conta que os preços da gasolina, diesel e derivados de petróleo tendem a aumentar, já que anualmente o consumo se eleva e as reservas naturais diminuem. Há também os problemas políticos, guerras e crises internacionais, com conseqüente elevação do preço do barril de petróleo.

Dentre as vantagens na utilização do biodiesel, cita-se: ótima capacidade lubrificante, com aumento da vida útil do motor; menor risco de explosão; fácil transporte e armazenamento; ausência de resíduos, e ótimo desempenho do motor; os veículos com motor biocombustível, não precisam de adaptação especial (BIODIESELBR, 2011).

Segundo a ANP (2010), no Brasil, o biodiesel teve sua comercialização impulsionada pelo aumento no teor da adição de 3 para 4% de biodiesel, no diesel de petróleo, ocorrido em julho de 2009. Com isso, as vendas de biodiesel obtiveram um aumento de 39% em relação a 2008, embora o crescimento fosse sobre uma base ainda pequena. Todavia, a disseminação do consumo do biodiesel e do etanol, produto da cana-de-açúcar, corroborou em reforçar a posição pioneira do Brasil na utilização de fontes de energia renováveis, frente aos demais países mundiais.

De acordo com Lofrano (2008), muitas matérias-primas podem ser utilizadas na produção de biodiesel e podem ser divididas nos seguintes grupos: óleos vegetais, gordura animal e gorduras residuais. Atualmente, as matérias-primas mais utilizadas na produção do biodiesel são o óleo de soja (Estados Unidos e Brasil), óleo de palma (Malásia e Colômbia) e óleo de canola e girassol (Europa).

Uma vantagem adicional que o Brasil apresenta em relação aos demais países é a existência de muitas terras cultiváveis que podem produzir enorme variedade de oleaginosas, com um custo de produção mais baixo. Assim, com esse potencial, no futuro mais máquinas poderão ser movimentadas por biocombustíveis brasileiros.

Atualmente, os Estados Unidos são o maior produtor de biodiesel do mundo, com uma produção estimada na capacidade instalada de 5.912 milhões de litros em 2010, seguida pela Alemanha com 5.047 milhões de litros (GBC, 2011). Segundo a ANP (2010), o Brasil está entre os maiores produtores e consumidores de biodiesel, com produção anual, em 2010, de 2.400 milhões de litros 50% mais que em 2009 e com capacidade instalada para produzir 4.700 milhões de litros (BIODIESELBR, 2011). A Colômbia surge como a terceira potência latino-americana na produção de biodiesel depois do Brasil e Argentina, com produção estimada de 584 milhões de litros em 2010 (GBC, 2011), e com a meta de chegar a 1 milhão de litros nos próximos cinco anos (FNBC, 2011).

2. Importância da glicerina bruta

Inicialmente se esclarece a diferença entre o glicerol e glicerina bruta. O termo glicerol aplica-se, geralmente, ao composto puro, ou seja, ao 1,2,3- propanotriol, enquanto o termo glicerina bruta aplica-se ao coproduto com impurezas e, portanto, com menos de 90% de glicerol.

Na atualidade, a glicerina bruta surge como um produto promissor na indústria animal. Historicamente, a glicerina era derivada de fontes de gordura animal e utilizada como um subproduto na confecção de sabão. Todavia, hoje a maior parte da glicerina bruta disponível no mercado é obtida como coproduto do processamento do biodiesel.

A glicerina com alta pureza pode ser utilizada numa infinidade de aplicações industriais, especialmente, em setores alimentícios e farmacêuticos, como agente umectante e de texturização.

No Brasil, a indústria do biodiesel cresce exponencialmente, decorrente da implementação de incentivos fiscais e da pressão de grupos ambientalistas para o uso de combustíveis renováveis. Isso permitiu com que os preços do biodiesel fossem competitivos frente aos combustíveis derivados do petróleo. Essa rápida expansão da indústria do biodiesel também provocou aumento do estoque de glicerina bruta, fazendo o preço cair.

Com isso, grandes usinas de biodiesel refinam sua própria glicerina para melhorar o preço do produto no mercado, mas esta solução não é viável para as usinas de médio porte, as quais não possuem volume suficiente para justificar a montagem de uma refinaria, disponibilizando então o excedente de glicerina bruta no varejo. Nesse sentido, os baixos preços de mercado da glicerina bruta despertou interesse para uso na alimentação animal, especialmente na bovinocultura, como fonte energética em potencial.

Pesquisas têm sido desenvolvidas nos últimos anos, porém as informações sobre o uso da glicerina bruta na alimentação animal ainda são controversas com relação aos aspectos fisiológicos e metabólicos. Todavia, de maneira geral, as pesquisas indicam que a utilização da glicerina bruta é viável na produção de ruminantes, principalmente na substituição do milho nas rações.

A glicerina é um composto orgânico, líquido à temperatura ambiente (25°C), higroscópico, inodoro, viscoso e de sabor adocicado. Seu ponto de fusão é de 17,8°C e ebulição com decomposição em 290°C (ANP, 2010). É classificada em vários graus, tanto pela quantidade de glicerol como pelas impurezas presentes, como água, lipídios,

cinzas e metanol. Embora o glicerol seja incolor, as formas menos puras podem ter sua cor variando do âmbar para um castanho muito escuro (Carvalho, 2011). A cinza residual vem principalmente do sódio utilizado como catalisador, juntamente com o metanol após a etapa de lavagem no processo de produção de biodiesel (Thompson & He, 2006).

As características físicas e químicas da glicerina permitem seu uso em diversas áreas, pelas suas propriedades umectante, plastificante, emoliente, espessante, solvente, dispersante, lubrificante, adoçante e anticongelante (NATURAL RESOURCES CANADÁ, 2005). Segundo Carvalho (2011), as características da glicerina bruta dependem do tipo de ácido graxo (gordura animal ou óleo vegetal) e do tipo de catálise empregada na produção de biodiesel.

Thompson & He (2006), ao analisarem a glicerina bruta produzida a partir de transesterificação de sete fontes de óleos vegetais, relataram que a presença de carboidratos, gordura, proteína, cinzas e outros elementos traços é variável, e depende do tipo de óleo usado no processo. Os mesmos autores determinaram que o teor de gordura varia de 1 a 13% e de carboidratos 75 a 83%. Porém, no mercado encontra-se glicerina bruta com percentual de glicerol variando de 35 a 90%.

Com relação à quantidade de glicerina bruta produzida como coproduto no processo de obtenção do biodiesel, Carvalho et al. (2010) relatam que sua produção corresponde, a aproximadamente, 10% do volume total de biodiesel. Porém, Zijlstra et al. (2009) afirmaram que a cada 1L de biodiesel produzido obtêm-se 79 g de glicerina bruta. Entretanto, embora a produção de biodiesel possa não atender às necessidades futuras de combustível, espera-se um aumento expressivo na disponibilidade da glicerina bruta nos próximos anos, com conseqüente uso na alimentação animal.

2.1. Metabolismo do glicerol

O glicerol está presente no metabolismo dos animais, sendo encontrado no sangue e nas células. Segundo Lin (1977), o glicerol é derivado da lipólise no tecido adiposo e da hidrólise dos triglicerídeos das lipoproteínas do sangue. Nos ruminantes, o glicerol é fermentado até ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no rúmen.

Os primeiros estudos sobre a fermentação ruminal do glicerol indicaram que este foi quase que inteiramente transformado em ácido propiônico (Johns et al., 1953; Garton et al., 1961). Porém, outros estudos indicaram aumento na concentração dos ácidos acético e propiônico (Wright, 1969), e dos ácidos propiônico e butírico (Czerkawski &

Breckenridge, 1972; Krehbiel, 2008). No entanto, estudos que utilizam glicerol marcado com ^{14}C indicaram que a maior parte do glicerol foi convertida em propionato (Bergner et al., 1995).

Estudos “in vitro” sugerem que bactérias da espécie *Selenomonas ruminantium* são as grandes responsáveis pela fermentação do glicerol no rúmen, com consequente produção de propionato, succinato, lactato e acetato (Hobson & Mann, 1961).

No fígado, o destino do glicerol absorvido é a oxidação pela via glicolítica, com necessidade da enzima glicerol quinase (Lin, 1977). Entretanto, quando há alta demanda de glicose, como no caso de vacas em lactação o destino do glicerol passa a ser a gliconeogênese, juntamente com o propionato (Donkin, 2008).

O glicerol é o precursor do gliceraldeído-3-fosfato, um intermediário na lipogênese no tecido adiposo e da gliconeogênese no fígado, fornecendo também energia pela via glicolítica e do ciclo do ácido cítrico (Brisson et al., 2001).

Uma vez no sangue, o glicerol pode ser convertido à glicose via gliconeogênese ou oxidado para a produção de energia via glicólise e ciclo do ácido cítrico (Robergs & Griffin, 1998). O glicerol também é componente principal da biossíntese de triglicerídeos podendo ser incluído nos triglicerídeos como reserva no tecido adiposo ou nos fosfolípídeos de membrana (Lehninger, 2011).

2.2. Utilização da glicerina bruta em ruminantes

Nos últimos anos, os nutricionistas de ruminantes têm demonstrado interesse em pesquisar os produtos derivados da indústria do biodiesel, especialmente da glicerina bruta. De maneira geral, pode-se dizer que os resultados tem sido positivos. Todavia, há informações pouco consistentes e contraditórias, isto em parte pode ser explicado pela falta de padronização do produto comercial. No entanto, grandes esforços vêm sendo feitos nas indústrias de biodiesel com o intuito de padronizar a produção de glicerina bruta, procurando formas mais puras e com benefícios para os produtores num futuro próximo.

Schröder & Südekum (1999), ao fornecerem glicerina bruta para novilhos leiteiros, concluíram que é um alimento excelente, até mesmo quando incluída uma forma impura. Os mesmos pesquisadores relatam que com 10% de glicerina bruta não houve influencia no consumo de matéria seca, na digestibilidade dos nutrientes e na síntese microbiana. Roger et al. (1992), em ensaios “in vitro”, observaram que 0,5 e 5,0% de

glicerol inibiram a degradação da celulose por fungos e bactérias celulolíticas, respectivamente.

No entanto, embora os fungos não desempenhem papel vital na fermentação ruminal de dietas de alto concentrado, a supressão da atividade celulolítica da glicerina bruta pode alterar o desempenho ou reduzir a ingestão de matéria seca em animais alimentados com dietas contendo mais fibras (Schneider, 2010).

Krueger et al. (2010), usando até 40% de glicerol em estudo "in vitro" mostraram que o glicerol não afetou a digestibilidade da fibra.

Pereira et al. (2008) avaliaram a influência da glicerina bruta (0; 0,5; 1; 2; 3 e 5%) na dinâmica de fermentação "in vitro" do feno de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e observaram que o acréscimo de 2 a 5% de glicerina bruta modificou as curvas de produção de gases e que a glicerina bruta teria efeito negativo na fermentação ruminal. Wang et al. (2009), em estudo realizado com gado Simental alimentados com 60% de palha de milho e 40% de concentrado, observaram que a suplementação com 100, 200 e 300 g/dia de glicerol melhorou o padrão de fermentação ruminal, diminuindo a proporção acetato:propionato.

Em relação à performance dos animais, Parsons et al. (2009) verificaram que a glicerina bruta fornecida a bovinos de corte cruzados, variando de 0 a 16% melhorou o ganho de peso a partir da adição de 2% de glicerina bruta na dieta. Em contraste, Mach et al. (2009), substituindo 0, 4, 8 ou 12% do grão de cevada com glicerina bruta em dietas com alto concentrado para touros da raça Holandês, não observaram diferenças no consumo e no ganho de peso diário.

A inclusão de 3,1% de glicerina bruta na dieta de vacas leiteiras aumentou a produção e a proteína do leite (Bodarski et al. 2005). O fornecimento de 0, 0,5, e 2% de glicerina bruta em rações de terminação para novilhas confinadas não resultou em melhorias no consumo e ganho de peso (Schneider, 2010). Algumas pesquisas também têm sido realizadas em ovinos e, nesse sentido, Pethick et al. (1999) sugeriram que a suplementação da dieta de ovelhas com glicerina bruta poderia melhorar a qualidade de carne.

Outra vantagem da utilização de glicerina bruta nas dietas de ruminantes seria reduzir a poluição do ambiente. Segundo Trabue et al. (2007), o fornecimento de glicerina bruta tende a reduzir a quantidade de carbono e hidrogênio disponível para produção de gás metano, pelo aumento da síntese de propionato, com consequente melhoria na eficiência de utilização da energia pelo animal. Além disso, o glicerol

presente na glicerina bruta possui natureza higroscópica que pode melhorar a hidratação pela redução da velocidade de eliminação de água do organismo (Brisson et al., 2001), assim como também aumentar a capacidade de retenção de água das rações em ambientes de baixa umidade e melhorar a palatabilidade do concentrado por causa de seu aroma suave e sabor adocicado (Elam et al., 2008). Todavia, essas vantagens devem ser testadas e analisadas por meio de ensaios experimentais.

Contudo, há uma dificuldade de extrapolar os dados das pesquisas existentes, já que há grande variabilidade na composição da glicerina bruta utilizada nos experimentos.

3. Nitrogênio não-proteico (NNP) para ruminantes

Na busca pela dieta mais econômica sem perder de vista a eficiência, tem-se optado cada vez mais pelo uso de fontes de nitrogênio não-proteico (NNP). E, nesse sentido, a ureia tem sido a fonte mais disponível e utilizada (Castañeda et al., 2009).

O conceito do uso de componentes nitrogenados não-proteicos modificou-se bastante nos últimos anos. No passado, utilizava-se o máximo possível de NNP em substituição à proteína verdadeira, desde que a produção e saúde dos animais não fossem afetadas. Por outro lado, a substituição da proteína de origem vegetal ou animal da dieta pelo NNP diminui o custo do nitrogênio e com frequência o custo da ração (Oliveira et al., 2001).

Como os índices zootécnicos dos animais raramente melhoram com o uso do NNP em substituição a fontes proteicas verdadeiras, a sua utilização deve ser estratégica e baseada no conhecimento nutricional, na disponibilidade e custo dos alimentos. É importante lembrar que atualmente o custo da ureia é dependente dos preços internacionais do petróleo, logo, à medida que o petróleo atinge preços históricos mais altos a ureia apresenta custo mais elevado.

3.1. Utilização de NNP de liberação lenta em ruminantes

O conceito de que a taxa de liberação de nitrogênio amoniacal deve coincidir com a taxa de digestão dos carboidratos é cada vez mais claro (Castañeda et al., 2009). Este fato tem levado a indústria a buscar o desenvolvimento de compostos de liberação lenta do NNP, com menores riscos de intoxicação (Pires et al., 2004). Nos últimos anos, várias fontes de NNP foram avaliadas como alternativas em substituição à ureia, e entre

as mais conhecidas estão o biureto, a creatinina, o diureido e o isobutano, assim como outros produtos em fase de teste experimental.

Todavia, os resultados com o uso de tais fontes são controvertidos, e alguns já têm sido descartados, por não apresentarem os resultados esperados ou por seu elevado custo. Tendo em vista as limitações no uso da ureia na alimentação de ruminantes, pela sua toxidez, a busca por produtos e compostos que promovam a otimização da fermentação ruminal continua.

Pela necessidade de adaptação dos animais à ureia e com base na hipótese de sincronização das taxas de degradação de nutrientes no rúmen, é importante o uso de fontes de nitrogênio que mantenham os níveis de amônia ruminal constantes. Com esse intuito, algumas tentativas e produtos têm sido lançados ao mercado.

A forma de proteger a ureia tem sido o grande desafio, assim estão sendo desenvolvidos compostos com polímeros (Optigen[®] e Optigen[®]1200), compostos com poliuretano (Xin et al., 2010), ureia encapsulada (Taylor-Edwards et al., 2009), ureia fisicamente encapsulada por ceras vegetais (Optigen[®]II), entre outras. Segundo, Azevedo et al. (2010), o Optigen[®]II é uma alternativa promissora e eficiente de NNP de liberação lenta. O produto visa diminuir a velocidade de hidrólise da ureia e otimizar a disponibilidade de energia, com isto, evita-se o maior problema na administração de ureia, ou seja, o desequilíbrio entre a liberação de energia e nitrogênio.

Vários estudos são conduzidos para investigar a influência do NNP de liberação lenta no consumo e digestibilidade dos nutrientes. Puga et al. (2001), trabalhando com ureia protegida em dietas com alta forragem, para ovinos, observaram aumento significativo no consumo e na digestibilidade dos nutrientes, pela melhor atividade dos microrganismos na fermentação da fibra no rúmen. Galo et al. (2003) relataram que a digestibilidade total de MS e PB em vacas da raça Holandês em lactação aumentou quando foi utilizada como fonte de NNP a ureia protegida com polímero (Optigen[®]) em dose de 0,77% da matéria seca. Resultados semelhantes foram obtidos por Xin et al. (2010), os quais alimentando vacas leiteiras com 1,7% de ureia revestida com poliuretano, observaram que maior ingestão de MS melhora a digestibilidade de nutrientes nas dietas com ureia revestida de poliuretano que aqueles com ureia comum.

Por outro lado, Santos et al. (2011), trabalhando com 0,61% de Optigen[®]II em dietas para vacas leiteiras, não observaram diferenças na digestibilidade da MO e FDN. Entretanto, Ribeiro et al. (2011), trabalhando com 297 g/dia de Optigen[®]1200, observaram aumento na ingestão de MS em dietas com feno de baixa qualidade, porém,

a digestibilidade e degradabilidade do feno não foram alteradas pela inclusão da ureia protegida.

Puga et al. (2001) mostraram que a adição de 10, 20 ou 30% de ureia protegida melhora a produção de N-NH₃ e ácidos graxos voláteis (AGV). Entretanto, Xin et al. (2010) avaliaram os efeitos da ureia revestida de poliuretano sobre a concentração de AGV ruminal em vacas Holandesas e não observaram diferenças significativas. No entanto, Paula et al. (2009), trabalhando com vacas mestiças, observaram que a ureia protegida com polímero (Optigen[®]) promoveu liberação mais constante de nitrogênio na forma amoniacal (N-NH₃), no ambiente ruminal, e proporcionou maior estabilidade do pH, durante um período de observação de 24h. Taylor-Edwards et al. (2009) relataram que a ureia protegida promoveu a liberação lenta da amônia no rúmen sem afetar os metabólitos produzidos na fermentação ruminal. Nesse sentido, Ribeiro et al. (2011) afirmaram que o ambiente ruminal em termos de pH e NH₃ melhorou quando novilhos de corte foram suplementados com uma fonte de NNP de liberação lenta (Optigen[®] 1200).

Todavia, os resultados das pesquisas do uso do NNP de liberação lenta em relação à síntese microbiana são contraditórios. Galo et al. (2003) observaram que a suplementação com ureia revestida com polímero (Optigen[®] 1200), em vacas leiteiras, não alteraram a síntese de proteína microbiana. Contudo, Harrison et al. (2007) relatam que foram observadas tendências de aumento na síntese microbiana “in vitro”, quando o Optigen[®] II substituiu a ureia. Santos et al. (2011) não observaram diferenças no volume urinário e alantoína quando vacas leiteiras foram suplementadas com Optigen[®] II. A ureia protegida mostra-se como um produto que aporta N disponível no rúmen mais lentamente que a ureia, porém, mais rapidamente que o N dos alimentos proteicos de origem vegetal.

Referências

- ANP – Agência Nacional de Petróleo. **Anuário Estatístico Brasileiro do Petróleo, Gás Natural e Bicombustíveis**. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br>> Acesso em: 13 jul. 2011.
- AZEVEDO, E.B.; OSPINA-PATIÑO, H. SILVEIRA, A.L.F. et al. Suplementação nitrogenada com ureia comum ou encapsulada sobre parâmetros ruminiais de novilhos alimentados com feno de baixa qualidade. **Ciência Rural**, v.40, p.622-627, 2010.

- BERGNER, H.; KIJORA, C.; CERESNAKOVA, Z. et al. In vitro studies on glycerol transformation by rumen microorganisms. **Archiv für Tierernährung**, v.48, p.245-256, 1995.
- BIODIESELBR, [2011]. **Vantagens do biodiesel**. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/biodiesel/vantagens/vantagens-biodiesel.htm>> Acesso em: 20 jul. 2011.
- BODARSKI, R.; WERTELECKI, T.; BOMMER, F.; GOSIEWSKI, S. The changes of metabolic status and lactation performance in dairy cows under feeding TMR with glycerin (Glycerol) supplement at periparturient period. **Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Animal Husbandry**, v.8, p.1-9, 2005.
- BRISSON, D.; VOHL, M.C.; ST-PIERRE, J. et al. Glycerol: a neglected variable in metabolic process. **BioEssays**, v.23, p.534-542, 2001.
- CARVALHO, P.L.; MOREIRA, I.; PIANO, L.M. et al. Valor nutricional da glicerina bruta e semipurificada na alimentação de suínos na fase de crescimento. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 47., 2010, Salvador. **Anais...** Salvador: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2010.
- CARVALHO, P.L.O. **Glicerina bruta na alimentação de suínos**. Maringá. 2011. 92p. Tese (doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- CASTAÑEDA, R. D.; BRANCO, A.F.; CONEGLIAN, S.M. et al Substituição de ureia por cloreto de amônio em dietas de bovinos: digestibilidade, síntese de proteína microbiana, parâmetros ruminais e sanguíneos, **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.31, p.271-277, 2009.
- CZERKAWSKI, J.W.; BRECKENRIDGE, G. Fermentation of various glycolytic intermediates and other compounds by rumen micro-organisms, with particular reference to methane production. **British Journal of Nutrition**, v.27, p.131-146, 1972.
- DONKIN, S.S. Glycerol from Biodiesel Production: The New Corn for Dairy Cattle **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.280-286, 2008.
- ELAM, N.A.; ENG., K.S.; BECHTEL, B. et al. Glycerol from biodiesel production: Considerations for feedlot diets. **Proceedings of the Southwest Nutrition Conference**. Tempe AZ. n.21, 2008.
- FNBC. Federación nacional de biocombustibles de Colombia [2011]. **Estadísticas**. Disponível em: <<http://www.fedebiocombustibles.com/v2/>> Acesso em: 16 jul. 2011.
- GALO, E.; EMANUELE, S.M.; SNIFFEN, C.J. et al. Effects of a polymer-coated urea product on nitrogen metabolism in lactating Holstein dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.2154-2162, 2003.
- GARTON, G.A.; LOUGH, A.K.; VIOQUE, E. Glyceride hydrolysis and glycerol fermentation by sheep rumen contents. **Journal of General Microbiology**, v.25, p.215-225, 1961.
- GBC – Global Biofuels Center [2011]. **TOP 25 - Global Ethanol and Biodiesel Production Capacity**. Disponível em: <http://www.globalbiofuelscenter.com/NM_Top5.aspx> Acesso em: 14 Out. 2011.
- HARRISON, G.A.; TRICARICO, J.M.; MEYER, M.D. et al. Effects of Optigen® on fermentation, digestion, and N partitioning in rumen-simulating fermenters. **Journal of Animal Science**, v.85, n.98 (abstract.), 2007.
- HOBSON, P.N.; MANN, O.S. The isolation of glycerol-fermenting and lipolytic bacteria from the rumen of the sheep. **Journal of General Microbiology**, v.25, 227-240, 1961.

- JOHNS, A.T. Fermentation of glycerol in the rumen of sheep. **New Zealand Journal of Science and Technology**. v.35, p.262-269, 1953.
- KREHBIEL. Ruminal and physiological metabolism of glycerin, **Journal of Animal Science**, v.86, p.392 (E Suppl 2), 2008.
- KRUEGER, N.A.; ANDERSON, R.C.; TEDESCHI, L.O. et al. Evaluation of feeding glycerol on free fatty acid production and fermentation kinetics *in vitro*, **Bioresource Technology**, v.101, p.8469–8472, 2010.
- LEHNINGER, A. L. **Princípios de Bioquímica**. 5 ed. Sarvier, São Paulo, 725 p. Cap. 12, p.223-290, 2011.
- LIN, E.C.C. Glycerol utilization and its regulation in mammals. **Annual Review Biochemistry**, v.46, p.765–795. 1977.
- LOFRANO, R.C.Z. Uma revisão sobre biodiesel. **Revista Científica do UNIFAE**, v.2, 2008.
- MACH, N.; BACH, A.; DEVANT, D. Effects of crude glycerin supplementation on performance and meat quality of Holstein bulls fed high-concentrate diets. **Journal of Animal Science**, v.87, p.632–638, 2009.
- MOTA, C.J.A.; SILVA, C.X.; GONÇALVES, V.L.C. Gliceroquímica: novos produtos e processos a partir da Glicerina de produção de biodiesel. **Revista Química Nova**, v.32, p.639-648, 2009.
- NATURAL RESOURCES CANADA. [2005] Biodiesel: **GHG Emissions Using Ghgenius. An Update**. Disponível em: <<http://www.ghgenius.ca/reports/NRCanbiodieselghgemissionsupdate.pdf>> Acesso em: 12 jul. 2011.
- OLIVEIRA, A.S.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.D. et al. Produção de proteína microbiana e estimativas das excreções de derivados de purinas e de ureia em vacas lactantes alimentadas com rações isoprotéicas contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não-protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.1621-1629, 2001.
- PAULA, A.A.G.; FERREIRA, R.N.; ORSINE, G.F. et al. Ureia polímero e ureia pecuária como fontes de nitrogênio solúvel no rúmen: parâmetros ruminal e plasmático. **Ciência Animal Brasileira**, v.10, p.1-8, 2009.
- PARSONS, G.L.; SHELOR, M.K.; DROUILLARD, J.S. Performance and carcass traits of finishing heifers fed crude glycerin. **Journal of Animal Science**, v.87, p.653-657, 2009.
- PEREIRA, L.G.R.; MAURÍCIO, R.M.; MENEZES, D.R. et al. Influência da glicerina bruta na cinética de fermentação ruminal *in vitro*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 45., 2008, Lavras. **Anais...** Lavras: Sociedade Brasileira de Zootecnia, [2008]. (CD-ROM).
- PETHICK, D.W.; CUMMINS, L.; GARDNER, G.E. et al. **The regulation of glycogen level in the muscle of ruminants by nutrition**. In. Presented at Recent advances in Animal Nutrition conference. 1999. Armidale, Australia.
- PIRES, A.V.; OLIVEIRA JUNIOR, R.C; FERNANDES, J.J.R. et al. Substituição do farelo de soja por ureia ou amiréia na dieta de bovinos de corte confinados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.937-942, 2004.
- PUGA, D. C.; GALINA, H. M.; PEREZ-GIL, R. F. et al. Effect of a controlled release urea supplement on rumen fermentation in sheep fed a diet of sugar cane tops (*Saccharum officinarum*), corn stubble (*Zea mays*) and King grass (*Pennisetum purpureum*). **Small Ruminant Research**, v.39, p.269–276, 2001.
- RIBEIRO, S.S.; VASCONCELOS, J.T.; MORAIS, M.G. et al. Effects of ruminal infusion of a slow-release polymer-coated urea or conventional urea on apparent

- nutrient digestibility, *in situ* degradability, and rumen parameters in cattle fed low-quality hay. **Animal Feed Science and Technology**, v. 164, p.53–61, 2011.
- ROBERGS, R.A.; GRIFFIN, S.E. Glycerol: biochemistry, pharmacokinetics and clinical and practical applications. **Sport Medicine**, v.26, p.145-167, 1998.
- ROGER, V.; FONTY, G.; ANDRE, C. et al. Effects of glycerol on the growth, adhesion and cellulolytic activity of rumen cellulolytic bacteria and anaerobic fungi. **Current Microbiology**, v.25, p.197-201, 1992.
- SANTOS, J.F.; DIAS JÚNIOR, G.S.; BITENCOURT, L.L. et al. Resposta de vacas leiteiras à substituição parcial de farelo de soja por ureia encapsulada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, p.423-432, 2011.
- SCHNEIDER, C. J. **Crude glycerin in feedlot cattle diets and as a solvent in maillard reaction processes intended for manufacturing value-added protein meals**, B.S., Kansas State University, 2008. 90p. MASTER OF SCIENCE, Department of Animal Sciences and Industry College of Agriculture, KANSAS STATE UNIVERSITY Manhattan, Kansas. 2010.
- SCHRÖDER, A.; SÜDEKUM, K.H. **Glycerol as a by-product of biodiesel production in Diets for ruminants**. Kiel: University of Kiel, 2007. Disponível em: <<http://regional.org.au/au/gcirc/1/241.htm>> Acesso em: 19 jul. 2011.
- SOUSA, G.S.; PIRES, M.M.; ALVES, J.M. Análise da potencialidade da produção de biodiesel a partir de óleos vegetais e gorduras residuais. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UESC, 11., 2006, Santa Cruz. **Anais...** Santa Cruz: UESC, 2006. p.477-478.
- TAYLOR-EDWARDS, C.C.; HIBBARD, G.; KITTS, S.E. et al. Effects of slow-release urea on ruminal digesta characteristics and growth performance in beef steers. **Journal of Animal Science**, v.87, p.200–208, 2009.
- THOMPSON, J.C.; HE, B.B. Characterization of crude glycerol from biodiesel production from multiple feedstocks. **Applied Engineering in Agriculture**, v.22, p.261–265, 2006.
- TRABUE, S.; SCOGGIN, K.; TJANDRAKUSUMA, S. et al. Ruminal fermentation of propylene glycol and glycerol. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.55, p.7043-7051, 2007.
- WANG, C.; LIU, Q.; YANG, W.Z. et al. Effects of glycerol on lactation performance, energy balance and metabolites in early lactation Holstein dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v.151, p.12-20, 2009.
- WRIGHT, D.E. Fermentation of glycerol by rumen microorganisms. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v.12, p.281-286, 1969-
- XIN, H.S.; SCHAEFER, D.M.; LIU, Q.P. et al. Effects of polyurethane coated urea supplement on *in vitro* ruminal fermentation, ammonia release dynamics and lactating performance of Holstein dairy cows fed a steam-flaked corn-based diet. **Asian and Australian Journal of Animal Science**, v.23, p.491-500, 2010.
- ZIJLSTRA, R. T.; MENJIVAR, K.; LAWRENCE, E. et al. The effect of feeding crude glycerol on growth performance and nutrient digestibility in weaned pigs. **Canadian Journal of Animal Science**. v.89, p.85-89, 2009.

OBJETIVOS GERAIS

Avaliar os efeitos da inclusão de glicerina bruta na dieta de bovinos de corte sobre a digestibilidade aparente dos nutrientes, a síntese de proteína microbiana, fermentação ruminal e cinética ruminal.

Avaliar os efeitos da substituição da ureia pela ureia de liberação lenta (Optigen® II) na dieta de bovinos de corte sobre a digestibilidade aparente dos nutrientes, síntese de proteína microbiana, fermentação ruminal, cinética ruminal e nitrogênio ureico no plasma.

II- Substituição do milho pela glicerina bruta na dieta de bovinos de corte e efeitos sobre a digestibilidade dos nutrientes, síntese de proteína microbiana, fermentação e cinética ruminal

Resumo: Objetivou-se avaliar os efeitos da inclusão de glicerina bruta (GB), na dieta de bovinos de corte, sobre a ingestão de matéria seca (IMS), coeficiente de digestibilidade aparente ruminal, intestinal e total dos nutrientes, síntese de proteína microbiana, fermentação e cinética ruminal. Foram utilizados cinco novilhos da raça Nelore (522 kg \pm 43 kg), providos com cânula ruminal. O delineamento experimental foi o quadrado latino 5 x 5, com período experimental de 21 dias. Os tratamentos consistiram em níveis crescentes de GB: 0, 3, 6, 9 e 12% com base na matéria seca total da dieta. A IMS; os coeficientes de digestibilidade aparente ruminal (CDR); de digestibilidade aparente intestinal (CDI) e de digestibilidade aparente total (CDT) da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro e carboidratos não-fibrosos não foram influenciados ($P>0,05$) pelos tratamentos. Porém, o fluxo fecal do extrato etéreo (EE) reduziu linearmente ($P<0,05$), e o CDI e CDT do EE aumentaram linearmente ($P<0,05$) à medida que se aumentou o nível de GB na dieta. A inclusão de diferentes níveis de GB na dieta não influenciou ($P>0,05$) na síntese de proteína microbiana nem a cinética ruminal. O pH e a concentração de nitrogênio amoniacal ($N-NH_3$) no líquido ruminal diminuíram linearmente ($P<0,05$) com o aumento do nível de GB na dieta. Conclui-se que a GB pode ser utilizada na alimentação de bovinos de corte em nível de 12%, e pode ser considerada uma boa alternativa energética.

Palavras-chave: biodiesel, coprodutos, glicerol, ruminantes

Replacement of corn by crude glycerin in beef cattle diet on apparent nutrient digestibility, microbial protein synthesis, fermentation and rumen kinetic

Abstract: The objective of this study was to evaluate the effects of glycerol supplementation on digestibility, microbial protein synthesis, fermentation and kinetic rumen in steers. Five ruminally cannulated Nelore steers (522 ± 43 kg) were used in a replicated 5×5 Latin Square arrangement of treatments with experimental period of 21 days. The treatments were: 0 (control), 3, 6, 9 e 12% of crude glycerin (CG) based on the total dry matter diet. The dry matter intake (DMI), ruminal apparent digestibility (CDR) and intestinal apparent digestibility (CDI), total apparent digestibility coefficient (CDT) of dry matter (DM), organic matter (OM), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF) and non-fiber carbohydrates (NFC) were not affected ($P>0.05$) by treatments. Fecal flow of ether extract (EE) decreased linearly ($P<0.05$) as the level of CG in the diet increased. However, the CDI and CDT of EE increased linearly ($P<0.05$) as the level of CG in the diet increased. The inclusion of different levels of CG in the diet showed no difference ($P>0.05$) in microbial protein synthesis and ruminal kinetics. The pH_{min}, average pH, NH₃-N_{max} and average NH₃-N decreased linearly ($P<0.05$) as the level of CG in the diet increased. According to information obtained in this study CG may be used in the diet of beef cattle up to 12% and can be considered a good alternative energy.

Key words: biodiesel, co-products, glycerol, ruminants

Introdução

Com a grande expansão da indústria do biodiesel nos últimos anos, observa-se um potencial aumento na disponibilidade de coprodutos do processamento, especialmente da glicerina bruta (GB), a qual possui alto teor energético podendo ser utilizada na alimentação animal.

O sistema de produção de bovinos em confinamento no Brasil tem passado por grandes mudanças nos últimos anos, especialmente no tamanho dos empreendimentos, no manejo e na nutrição dos animais. Esses sistemas são caracterizados por utilizarem nas suas dietas altas quantidades de milho. Todavia, a tendência do preço deste grão é aumentar ainda mais, já que a “commodity” está sendo destinada para a produção de etanol, principalmente nos Estados Unidos, assim, a utilização do milho na dieta de ruminantes torna-se limitada.

Nesse sentido, a GB tem surgido como opção, pelo seu menor custo e pela sua capacidade em substituir alimentos energéticos, como o grão de milho (Mach et al., 2009). Como o custo de produção de animais confinados ainda é considerado alto há grande interesse pelo uso de alimentos alternativos que possam substituir parte dos grãos utilizados nos concentrados, sem prejudicar os aspectos fisiológicos, metabólicos ou desempenho dos animais (Lage et al., 2010).

Todavia, ressalta-se que a GB obtida do processo de trans-esterificação do óleo vegetal no Brasil não é padronizada com relação a sua composição, embora nos últimos anos diversos esforços e novas tecnologias são estudadas para obter um coproduto de melhor qualidade.

A inclusão da GB em dietas para ruminantes, desde os primeiros estudos (Johns, 1953) até os mais recentes (Avila et al., 2011), indicou que o glicerol é quase que totalmente fermentado a propionato. Esse fato é altamente interessante na nutrição de bovinos de corte e foi comprovado por Bergner et al. (1995) que usaram glicerol marcado com C^{14} e observaram que a maior parte do glicerol foi convertido em ácido propiônico.

Segundo Trabue et al. (2007), o fornecimento de GB tende a reduzir a quantidade disponível de carbono e de hidrogênio ruminal para produção de gás metano, pela redução da produção de acetato, com conseqüente melhoria na eficiência de utilização da energia pelo animal.

Além disso, o glicerol presente na GB pode aumentar a capacidade de retenção de água das rações em ambientes de baixa umidade e melhorar a palatabilidade do concentrado por causa de seu aroma suave e sabor adocicado (Elam et al., 2008).

Entretanto, todas essas vantagens necessitam ser avaliadas em experimentos “in vivo”, no sentido de construir uma base científica pelos nutricionistas.

Este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar os efeitos da adição de GB em dietas de bovinos de corte, sobre a digestibilidade aparente dos nutrientes, a síntese de proteína microbiana, a fermentação e a cinética ruminal.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Setor de Avaliação de Alimentos para Animais Ruminantes da Fazenda Experimental de Iguatemi e no Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal, pertencentes à Universidade Estadual de Maringá (UEM).

Foram utilizados cinco novilhos da raça Nelore, pesando em média 522 ± 43 kg e providos de cânula ruminal. Os animais foram alojados em baias individuais cobertas, com $8,75 \text{ m}^2$ de área útil, dotadas de comedouro individual e bebedouro automático.

As dietas foram constituídas por 40% de silagem de sorgo (*Sorghum bicolor*) e 60% de ração concentrada, elaborada com grão de milho moído, farelo de soja, farelo de trigo, GB e minerais (Tabelas 1 e 2).

Os tratamentos consistiram em níveis crescentes de GB: 0, 3, 6, 9 e 12% com base na matéria seca total da dieta.

Tabela 1 - Composição química dos alimentos utilizados nas dietas experimentais (%)

Alimentos	MS	PB	EE	MM	FDN _{cp}	FDA
Silagem de sorgo	25,5	6,9	2,1	5,1	66,0	38,4
Milho	88,7	8,5	5,0	1,3	12,0	3,3
Farelo de Soja	88,2	53,7	2,7	6,0	9,5	8,9
Farelo de Trigo	87,9	18,9	2,9	3,8	29,6	10,3
Glicerina bruta ¹	89,1	0,3	-	6,4	-	-

¹Contendo: 73,5% de glicerol, 6,0 de ácidos graxos livres, 1,52% de metanol e 0,05% de etanol. Fonte: Indústria Biopar, Rolândia-PR.

Os alimentos foram fornecidos na forma de mistura completa, à vontade, em duas refeições diárias (8h e 16h, sendo a GB misturada aos demais ingredientes durante o preparo da ração concentrada.

Os períodos experimentais tiveram duração de 21 dias, sendo os seis últimos dias de cada período utilizados para coleta de amostras de alimentos fornecidos, sobras nos cochos, líquido ruminal, digesta omasal, fezes e urina.

Tabela 2 - Composição percentual e química das dietas experimentais em base da MS

Alimentos	Composição das dietas experimentais (%)				
	0	3	6	9	12
Silagem de sorgo	40,0	40,0	40,0	40,0	40,0
Milho	30,2	26,4	23,2	19,7	16,2
Farelo de soja	8,0	8,8	9,0	9,5	10,0
Farelo de trigo	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
Glicerina bruta	0,0	3,0	6,0	9,0	12,0
Carbonato de cálcio	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Cloreto de sódio	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Premix mineral ¹	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
PB	13,5	13,5	13,5	13,5	13,5
EE	3,1	3,2	3,2	3,2	3,2
FDNcp	36,7	36,4	36,1	35,8	35,5
CNF ²	43,1	43,2	43,6	43,9	44,2
NDT ²	71,0	71,0	71,0	71,0	71,0

¹Premix mineral: 91,2% Caulim, 0,023% Iodato de Cálcio, 1,0127% Óxido de Zinco, 0,0089% Selenito de Sódio, 0,03% Sulfato de Cobalto, 1,2% Sulfato de Cobre, 2,07% Sulfato de Manganês.

²Calculados, segundo Sniffen et al. (1992).

O consumo dos animais foi determinado subtraindo-se do alimento fornecido às sobras, sendo estas recolhidas e pesadas diariamente, antes do fornecimento do primeiro trato. Já a determinação da digestibilidade parcial e total da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), da proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), da fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína (FDNcp) e carboidratos não-fibrosos (CNF), foram efetuadas por meio de coleta de amostras de digesta omasal (~500 mL), pelo orifício retículo omasal por sucção, segundo técnica descrita por Leão et al. (2005) e, de fezes (~200 g) diretamente na ampola retal, respectivamente.

As amostras de digesta omasal e de fezes foram colhidas a partir do 14^o dia, durante seis dias, em diferentes horários (0; 2; 4; 6; 8; e 10h após a primeira alimentação), totalizando seis amostras de digesta omasal e seis amostras de fezes por animal/tratamento/período. Para determinação do fluxo omasal e da produção fecal, todos os animais receberam uma dose diária de 10 g de dióxido de titânio (TiO₂) diretamente no rúmen, a partir do sétimo dia de cada período experimental.

As amostras de digesta omasal e de fezes foram acondicionadas em sacos plásticos, devidamente identificados e congeladas (-20°C). Posteriormente, as amostras foram descongeladas, pré-secas em estufa de circulação forçada de ar a 55°C por 72h e moídas individualmente em moinhos tipo *Willey*, utilizando peneira com crivos de 1 mm. Em seguida, as amostras foram misturadas com base no percentual do peso seco, e realizada uma amostra composta de digesta omasal e de fezes por animal/tratamento/período.

As amostras dos alimentos fornecidos, das sobras, da digesta omasal e de fezes foram analisadas determinando-se os teores de MS, MO, PB, EE (AOAC, 1990), fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína (FDNcp), segundo, Van Soest et al. (1991). Os carboidratos não-fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT) foram obtidos pelas equações de Sniffen et al. (1992). As amostras de digesta omasal e de fezes foram analisadas para titânio, segundo Myers et al. (2004).

Durante o 21º dia, foram coletados, via cânula ruminal, 150 mL de líquido ruminal para determinação do pH, concentração de N amoniacal (N-NH₃) e do complexo cobalto ácido etilenodiamino tetra acético (Co-EDTA).

A primeira coleta foi iniciada imediatamente antes do fornecimento da primeira alimentação do dia, sendo esta coletada no tempo 0 e as próximas 2, 4, 6, 8, 12, 14 e 24h após a primeira alimentação. Após cada coleta de líquido ruminal, o pH era medido imediatamente com peagâmetro digital (Digimed DM20).

Para análise de nitrogênio amoniacal (N-NH₃), uma alíquota de 50 mL de líquido ruminal foi acidificada com 1 mL de H₂SO₄ (1:1) e armazenado a -20°C, para posterior análise. O líquido ruminal foi descongelado em temperatura ambiente, e posteriormente, centrifugado a 3.000 x g por 15 min. A concentração de N-NH₃ das amostras foi determinada pelo método de Fenner (1965).

Para determinação da cinética da fase líquida foram administrados no rúmen de cada animal, 30 g de Co-EDTA diluídos em 500 mL de água destilada, antes da primeira alimentação e colocados diretamente no rúmen em diferentes locais, em dose única para a determinação da taxa de passagem de líquidos (Udén et al., 1980). Também foram coletados cerca de 50 mL de líquido ruminal antes de colocar o Co-EDTA e a cada 2h até completar 12h, e uma última coleta às 24h após a administração do marcador.

A taxa de passagem de líquido e as curvas de concentração ruminal do Co-EDTA foram ajustadas ao modelo exponencial unicompartmental de Hungate (1966), $Y_{co} =$

$A \cdot e^{-(k_l \cdot t)}$, em que Y_{co} = concentração do indicador no tempo t ; A = concentração de equilíbrio do cobalto; k_l = taxa de passagem ou de diluição do cobalto; e t = tempo de amostragem. Os parâmetros da dinâmica da fase líquida foram calculados de acordo com Colucci et al. (1990) sendo: tempo de retenção no rúmen (horas) = $1 /$ taxa de passagem de fluidos ($TpRet = 1 / k_l \text{ \%}/h$); volume ruminal (Litros) = quantidade de cobalto fornecida (mg) / A mg/L ($VR = Co/A$); taxa de reciclagem da fase líquida ruminal (nº de vezes/dia) = $24h / TpRet$, (calculada conforme Maeng & Baldwin, 1976).

Foram coletadas quatro amostras spot de urina, do 17º ao 20º dia de cada período experimental, entre 3 e 4h após o fornecimento dos alimentos pela manhã, durante micção espontânea. Imediatamente após a coleta, a urina foi homogeneizada e em seguida, filtrada por filtros de tela e alíquotas de 10 mL foram diluídas imediatamente em 40 mL de H_2SO_4 a 0,036 N (Chen et al., 1995). Estas amostras tiveram o pH ajustado para valores inferiores a 3, para evitar destruição bacteriana dos derivados de purinas e precipitação do ácido úrico, e foram armazenadas a $-20^\circ C$ para posteriores análises de alantoína e ácido úrico. Uma subamostra de urina sem ácido foi levada no mesmo dia ao laboratório para determinar a concentração de creatinina na urina utilizando-se kits comerciais da GoldAnalisa®.

A partir da excreção média de creatinina, obtida por Barbosa et al. (2006) para bovinos da raça Nelore castrados (27,39 mg/kg), e da concentração de creatinina (mg/L) na amostra de urina, foi estimado o volume diário de urina. Esse volume foi utilizado para estimar as excreções diárias de alantoína e ácido úrico de cada animal.

A alantoína na urina foi analisada pelo método colorimétrico, conforme a técnica de Fujijara et al. (1987), descrita por Chen & Gomes (1992). A concentração de ácido úrico na urina foi realizada utilizando-se kits comerciais da Labtest®.

A excreção de purinas totais foi o resultado das excreções urinárias de alantoína e ácido úrico, sendo as purinas microbianas absorvidas (X , mmol/dia) calculadas a partir da excreção de purinas totais (Y , mmol/dia), utilizando-se a equação: $Y = 0,85X + 0,385PV^{0,75}$; em que 0,85 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados de purina na urina, e $0,385PV^{0,75}$ representa a contribuição endógena para a excreção de purinas (Verbic et al., 1990).

O fluxo intestinal de compostos nitrogenados microbianos (N_{mic} , g N/dia) foi calculado a partir das purinas microbianas absorvidas (P_{abs} , mmol/dia) utilizando-se a equação: $N_{mic} = (70 \cdot P_{abs}) / (0,83 \cdot 0,116 \cdot 1000)$, em que o valor 70 corresponde ao conteúdo de N nas purinas (mg N/mmol); o valor 0,83 é a digestibilidade das purinas

microbianas; e o valor 0,116 a relação N purina:N total dos microrganismos ruminais (Chen & Gomes, 1992).

O delineamento experimental utilizado foi o Quadrado Latino 5x5. Os dados foram interpretados por Anova, adotando-se 5% de probabilidade, e quando houve efeito significativo para tratamento procedeu-se à análise de regressão polinomial.

Os dados referentes aos valores de pH e às concentrações de N-NH₃ no líquido ruminal foram inicialmente ajustadas a uma equação para pH e outra para N-NH₃ em função do tempo, para cada animal dentro de período e cada tratamento, com estas equações foram calculados por animal/período/tratamento, o tempo transcorrido para atingir o máximo de acidez (pH) e as concentrações máximas e mínimas de N-NH₃. Esses pontos críticos foram analisados como variáveis biológicas, por Anova e quando significativos, foram ajustadas equações de regressão em função dos níveis de GB na dieta. Todos os procedimentos estatísticos foram conduzidos utilizando-se o programa SAS (*Statistical Analysis System*, versão 9.1).

Resultados e Discussão

A ingestão de MS, MO, FDN, PB e CNF, expressas em kg/dia, foram semelhantes entre os tratamentos ($P>0,05$). A IMS variou de 9,53 a 10,11 kg/dia e esses consumos ocorreram nos tratamentos 9 e 3% de GB, respectivamente (Tabela 3).

Resultados semelhantes foram observados por Mach et al. (2009), ao avaliarem quatro níveis de inclusão de GB com 85,7% de glicerol, sobre o desempenho de touros da raça Holandês alimentados com dietas alto concentrado, encontrando valores de IMS de 8,18; 8,19; 8,53 e 8,19 kg/dia para os níveis 0; 4, 8 e 12% de GB, respectivamente. Os mesmos autores relataram que o metanol existente na GB pode exercer efeito potencialmente negativo na IMS, porém, a presença de 0,09% desse composto não afetou o consumo dos animais; e concluíram que a GB pode ser incluída como fonte alternativa de energia em substituição de cereais até o nível de 12%. No presente estudo, a concentração de 1,5% de metanol também não ocasionou restrição na IMS.

Segundo Lage et al. (2010), o risco à saúde associado ao consumo de metanol, decorrente da inclusão de GB na dieta não é esperado em animais ruminantes, pois o metanol é naturalmente produzido no rúmen como resultado da fermentação da pectina.

Tabela 3 - Ingestão (ING), fluxo omasal (FO), fluxo fecal (FF), coeficiente de digestibilidade aparente ruminal (CDR), coeficiente de digestibilidade aparente intestinal (CDI) e coeficiente de digestibilidade aparente total (CDT), da MS, MO, PB, FDN_{cp}, EE e CNF, em função dos níveis de GB na dieta de bovinos de corte.

Variáveis	Níveis de GB na dieta (%)					Regressão	EPM	P<
	0	3	6	9	12			
ING g/dia	9.643	10.112	9.926	9.532	9.858	$\hat{Y} = 9.814$	208,8	0,35
FO - g/dia	5.719	5.760	5.473	5.489	5.056	$\hat{Y} = 5.500$	316,3	0,56
M FF - g/dia	4.014	4.118	3.806	3.837	3.853	$\hat{Y} = 3.925$	152,5	0,56
S CDR - %	40,7	43,0	44,9	42,4	48,7	$\hat{Y} = 43,8$	2,8	0,48
CDI - %	29,8	28,5	30,5	30,1	23,7	$\hat{Y} = 28,5$	4,6	0,63
CDT - %	58,4	59,2	61,5	59,8	61,0	$\hat{Y} = 60,0$	1,5	0,58
ING g/dia	9.139	9.564	9.370	8.982	9.273	$\hat{Y} = 9.266$	196,6	0,34
FO - g/dia	5.012	5.031	4.758	4.753	4.374	$\hat{Y} = 4.785$	282,5	0,52
M FF - g/dia	3.531	3.598	3.326	3.361	3.339	$\hat{Y} = 3.431$	138,8	0,54
O CDR - %	45,2	47,4	49,2	47,1	52,8	$\hat{Y} = 48,3$	2,6	0,47
CDI - %	29,5	28,5	30,1	29,3	23,7	$\hat{Y} = 28,2$	4,6	0,73
CDT - %	61,4	62,3	64,3	62,7	64,1	$\hat{Y} = 63,0$	1,4	0,58
ING g/dia	1.303	1.397	1.358	1.307	1.340	$\hat{Y} = 1.341$	27,8	0,16
FO - g/dia	1.002	1.030	1.052	1.026	984	$\hat{Y} = 1019$	61,3	0,96
P FF - g/dia	483	520	480	477	513	$\hat{Y} = 494$	16,2	0,24
B CDR - %	23,3	26,5	22,5	21,5	26,6	$\hat{Y} = 24,0$	4,0	0,52
CDI - %	51,8	49,5	54,4	53,5	47,9	$\hat{Y} = 51,4$	3,0	0,69
CDT - %	62,9	62,9	64,8	63,5	61,7	$\hat{Y} = 63,2$	1,2	0,51
F ING g/dia	3.426	3.521	3.437	3.266	3.419	$\hat{Y} = 3.414$	93,6	0,46
D FO - g/dia	2.944	3.011	2.784	2.817	2.647	$\hat{Y} = 2.841$	174,6	0,62
N FF - g/dia	2.403	2.449	2.310	2.374	2.378	$\hat{Y} = 2.383$	95,2	0,88
c CDR - %	14,1	14,4	19,0	14,0	22,6	$\hat{Y} = 16,8$	4,6	0,15
p CDI - %	18,4	18,8	17,0	15,7	10,3	$\hat{Y} = 16,0$	6,3	0,79
CDT - %	29,9	30,3	32,8	27,4	30,7	$\hat{Y} = 30,2$	2,9	0,75
ING g/dia	298	316	313	300	314	$\hat{Y} = 308$	9,0	0,49
FO - g/dia	279	282	295	274	257	$\hat{Y} = 278$	20,3	0,77
E FF - g/dia	75	65	55	49	46	$\hat{Y} = 80,3 - 7,4X$	4,6	0,01
E CDR - %	6,3	10,7	5,8	8,7	18,1	$\hat{Y} = 9,9$	5,6	0,55
CDI - %	73,1	76,9	81,3	82,0	82,2	$\hat{Y} = 70,7 + 2,6X$	1,6	0,01
CDT - %	74,8	79,4	82,4	83,6	85,4	$\hat{Y} = 73,4 + 2,5X$	1,3	0,01
ING g/dia	4.273	4.518	4.463	4.322	4.435	$\hat{Y} = 4.403$	78,7	0,22
FO - g/dia	787	706	627	635	486	$\hat{Y} = 648$	107,3	0,21
FF - g/dia	570	564	482	461	401	$\hat{Y} = 496$	52,3	0,18
CDR - %	81,6	84,3	85,9	85,3	89,0	$\hat{Y} = 85,2$	2,4	0,33
CDI - %	27,5	20,0	23,0	27,2	17,4	$\hat{Y} = 23,0$	4,3	0,68
CDT - %	86,8	87,4	89,1	89,4	90,8	$\hat{Y} = 88,6$	1,2	0,18
NDT ¹	62,8	63,9	66,1	64,6	66,1	$\hat{Y} = 64,7$	1,4	0,41

¹ Calculado, segundo Sniffen et al. (1992). EPM = erro-padrão da média, P = Valor de P

Parsons et al. (2009), alimentando novilhos cruzados, em confinamento, observaram que a inclusão de GB na dieta diminuiu linearmente a IMS passando de

8,84 para 7,80 kg/dia nos tratamentos 16 e 0% de GB, respectivamente, porém os autores não informaram a percentagem de glicerol na GB. Um comportamento oposto foi observado por Gunn et al. (2010), em ovinos tratados com GB (87,5% de glicerol), os quais observaram aumento linear na IMS, que subiu de 1,01 para 1,41 kg/dia para os tratamentos 0 e 20% de GB, respectivamente.

A inclusão da GB na dieta não teve efeito ($P>0,05$) sobre o CDR, CDI e CDT, da MS, MO, PB, FDNcp e CNF. Donkin et al. (2009) observaram que o CDT da MS e da MO aumentaram linearmente com a inclusão de GB (0 a 15%), porém o CDT da FDN não foi afetado pelos níveis. Vários estudos têm mostrado que a inclusão de GB na dieta pode diminuir a digestibilidade da fibra. Schröder & Südekum (1999) trabalharam com vacas leiteiras consumindo dietas com as proporções de volumoso e concentrado de 60 e 40% e relataram que quando 10% de GB são incluídos em dietas com alto amido, há tendência da redução da digestibilidade da parede celular, mas não interfere no CDT da MS e MO.

Em experimentos “in vitro”, Roger et al. (1992) observaram que 0,5 e 5,0% de glicerol puro inibiram a degradação da celulose por fungos e bactérias celulolíticas, respectivamente. Segundo Scheneider (2010), embora os fungos não desempenhem papel vital na fermentação ruminal de dietas de alto concentrado, a supressão da atividade celulolítica pela glicerina pode alterar o desempenho; ou ainda reduzir ingestão de matéria seca, bem como o CDT da FDN de animais alimentados com dietas contendo mais fibras. Corroborando, Lage et al. (2010) relataram que o CDT da FDN teve efeito quadrático com a inclusão de GB na dieta de ovinos obtendo valores de 57, 38, 40, 43 e 43% para os níveis de GB de 0, 3, 6, 9 e 12%. A digestibilidade da fibra está diretamente relacionada com o pH ruminal, e nesse estudo, apesar do pH ter diminuído linearmente (Tabela 4), a digestibilidade da fibra não foi prejudicada, provavelmente porque em nenhum momento o pH no ponto crítico de mínima foi inferior a 6,2, considerado adequado para o desenvolvimento das bactérias celulolíticas por Van Soest (1994).

Abo El-Nor et al. (2010) obtiveram respostas diferentes, com 0; 3,6; 7,2; e 10,8 % de glicerol na dieta, na base da MS, em experimento “in vitro”. Esses autores observaram que não houve diferenças no pH, porém a digestibilidade da FDN diminuiu linearmente à medida que aumentou o nível de glicerol nas dietas passando de 38,6 para 31,9 para os níveis 0 e 10,8%, respectivamente. AbuGhazaleh et al. (2010), trabalhando como níveis de substituição do milho pelo glicerol, (0; 15; 30 e 45%) em experimento

“in vitro”, não observaram diferenças para o pH. Porém, os autores relataram que a concentração de DNA do *Butyrovibrio fibrisolvens* foi significativamente reduzida com a inclusão de 30 e 45% de glicerol, indicando que altos níveis de glicerol podem afetar essa bactéria, o que influenciará diretamente a digestibilidade da fibra.

No presente experimento, a inclusão de GB diminuiu o fluxo fecal de EE ($P < 0,05$), refletindo em maiores CDI e CDT ($P < 0,05$) com maior inclusão de GB (Tabela 3). Lage et al. (2010) reportaram efeito diferente quando alimentaram ovinos com os mesmos níveis de GB, observando que o CDT do EE diminuiu linearmente, passando de 83 para 73% nos tratamentos 0 e 12% de GB, respectivamente. Porém, os autores relatam que a porcentagem de glicerol na GB foi 32,6%, e que a digestibilidade do EE foi influenciada pelo excesso de ácidos graxos presentes na GB (46,5%). Já no presente estudo, a porcentagem de ácidos graxos na GB foi de 6%. O aumento no CDI e CDT pode ser pela diminuição da lipólise no rúmen, pois Krueger et al. (2010) observaram a redução da lipólise de 48 e 77% com 2 e 20% de glicerol, em experimento em culturas “in vitro”. Esse fato provocaria maior fluxo de EE para o intestino, melhorando assim a digestibilidade.

O ponto crítico de mínima (PCmín) para o pH não foi alterado ($P > 0,05$) pelos níveis de GB. Porém, o pHmín e o pH médio diminuíram à medida que o nível de GB aumentou na dieta ($P < 0,05$). O pHmín passou de 6,51 para 6,29 nos tratamentos 0 e 12% de GB, respectivamente. Enquanto que o pH médio caiu de 6,70 para 6,49 para os tratamentos 0 e 12% de GB, respectivamente.

Tabela 4 - Ponto crítico (horas: minutos) e valores do pH e N-NH₃ em mg/dL no líquido ruminal no período de 0 a 8h após a primeira alimentação em função dos níveis de GB na dieta de bovinos

Variáveis	Níveis de GB na dieta (%)					Regressão	EPM	P<
	0	3	6	9	12			
PCmín ¹ pH (h:m)	4:57	4:41	4:41	4:40	4:25	$\hat{Y} = 4,68$	0,19	0,45
pH no PCmín	6,51	6,46	6,40	6,29	6,23	$\hat{Y} = 6,61 - 0,07X$	0,05	0,01
pH médio ³	6,70	6,63	6,67	6,53	6,49	$\hat{Y} = 6,73 - 0,05X$	0,03	0,01
PCmax ² N-NH ₃ (h:m)	1:23	1:39	1:39	1:51	1:37	$\hat{Y} = 1,63$	0,16	0,41
PCmín N-NH ₃ (h:m)	6:28	6:47	6:15	6:25	6:04	$\hat{Y} = 6,39$	0,23	0,31
N-NH ₃ mín (mg/dL)	5,00	5,74	6,21	6,85	6,78	$\hat{Y} = 6,11$	0,76	0,01
N-NH ₃ max (mg/dL)	17,07	17,40	15,91	13,54	10,33	$\hat{Y} = 20,05 - 1,73X$	1,07	0,43
N-NH ₃ médio ³ (mg/dL)	10,94	11,43	11,21	10,17	8,51	$\hat{Y} = 12,29 - 0,61X$	0,72	0,03

¹PCmín = Ponto crítico de mínima durante o período de 8h após a primeira alimentação. ²PCmax = Ponto crítico de máxima durante o período de 8h após a primeira alimentação, ³Valor médio durante o período de 0 a 8h após a primeira alimentação, EPM = erro-padrão da média, P = Valor de P.

Wang et al. (2009) relataram comportamento similar em novilhos alimentados com 0, 100, 200 e 300 g/dia de GB, observando valores de pH no líquido ruminal de 6,58; 6,56; 6,32 e 6,23 respectivamente. Da mesma forma, Defrain et al. (2004) reportaram que o pH caiu à medida que a inclusão de GB (80,2% de glicerol) na dieta aumentou, em vacas leiteiras no pós-parto, observando valores de 6,91; 6,89 e 6,61 para os níveis 0; 430 e 860 g de GB/dia, respectivamente. Apesar da queda no pH nos tratamentos com níveis mais altos de GB, os valores ainda estão acima do valor considerado mínimo desejável de 6,2, conforme relataram Hoover (1986), Ørskov (1988) e Van Soest (1994), como sendo ideal para promover a fermentação da fibra e não prejudicar a atividade dos microrganismos celulolíticos.

O ponto crítico de máxima (PCmax) e de mínima (PCmin) para o N-NH₃ não foram influenciados pela inclusão de GB ($P>0,05$), e os valores observados ocorreram entre 1:23 a 1:51 (horas:minutos) para PCmax e entre 6:04 a 6:47 (horas:minutos) para PCmín. A concentração mínima de N-NH₃ não foi influenciada pelos níveis de GB na dieta e verificou-se que, para todos os tratamentos, os valores mantiveram-se acima de 5 mg.dL⁻¹; considerados por Satter & Slyter (1974) mínimos para uma adequada fermentação ruminal da parede celular.

Com relação à concentração máxima (N-NH₃max) e média (N-NH₃ médio) de N-NH₃, foi observado que à medida que o nível de GB aumentou, a concentração de N-NH₃ diminuiu linearmente ($P<0,05$), possivelmente, pela presença do glicerol na dieta, o qual provocaria alto crescimento das populações microbianas no rúmen, elevando o consumo de N-NH₃, especialmente pelas populações que degradam fibra. Resultados semelhantes foram observados por Wang et al. (2009) em novilhos alimentados com dietas contendo 60% de volumoso e 40% de concentrado, com concentrações de 10,4; 9,3; 7,9 e 7,5 mg/100 mL para os níveis 0, 100, 200 e 300 g/dia de GB, respectivamente.

Outra razão desse comportamento pode ser a redução na atividade proteolítica. Essa teoria é sustentada por Paggi et al. (1999), os quais observaram a redução de até 20% na atividade proteolítica quando incluíram níveis de até 300 mM de glicerol em experimento “in vitro”. Os mesmos autores relatam que quando o glicerol está dissolvido no rúmen torna a proteólise mais difícil, em função da falta de uma cadeia hidrofóbica na molécula do glicerol. Wang et al. (2009) consideram a redução da degradação protéica no rúmen, com a suplementação de glicerol, como benéfica para os bovinos de alta produção, obtendo maior fluxo de proteína de alta qualidade dietética para o intestino delgado.

A taxa de passagem de líquidos (Kp), o volume ruminal (VR), o tempo de retenção (TR) e a taxa de reciclagem (TRec) não foram influenciados pelos níveis de GB na dieta, e os valores médios foram de 10,8%/h, 78,8L, 9,6h e 2,6 vezes/dia (Tabela 5).

Tabela 5 - Cinética ruminal em bovinos alimentados com níveis de GB.

Variáveis	Níveis de GB na dieta (%)					Regressão	EPM	P<
	0	3	6	9	12			
Kp (%/hora)	9,7	10,9	10,8	11,0	11,7	$\hat{Y} = 10,81$	0,58	0,24
VR (Litros)	83,2	80,8	77,8	76,1	76,1	$\hat{Y} = 78,78$	3,79	0,62
TR (horas)	10,7	9,4	9,6	9,3	8,9	$\hat{Y} = 9,57$	0,44	0,12
TRec (vezes/dia)	2,3	2,6	2,6	2,7	2,8	$\hat{Y} = 2,59$	0,14	0,25

Kp (fase líquida) = Taxa de passagem da fase líquida (%/h); VR (Litros) = Volume ruminal; TR = Tempo de Retenção (horas); TRec = Taxa de reciclagem (vezes/dia), EPM = erro-padrão da média, P = valor de P

Os grãos de cereais são protegidos por uma matriz proteica com função estrutural, que está densamente concentrada no endosperma vítreo, especialmente no grão de milho (Van Soest, 1994). Essa estrutura no milho dificulta a degradação e diminui a digestibilidade do amido no rúmen quando comparado com outros cereais (McAllister et al., 1990). Assim, já que a GB substituiu o milho na dieta, pela sua forma física e química era provável que a GB afetasse a cinética ruminal, aumentando a Kp e diminuindo o VR e TR, pois os microrganismos realizariam a fermentação do glicerol em tempo menor, mas tal fato não ocorreu. Nesse sentido, Kijora et al. (1998), trabalhando com garrotes recebendo infusão intrarruminal de 200 g de glicerol/dia, observaram que mais de 85% do glicerol infundido, desapareceu do rúmen nas primeiras 2h. Contudo, Krehbiel (2008) sugere que a velocidade de desaparecimento de glicerol no rúmen aumenta em animais previamente adaptados.

A inclusão de GB na dieta não teve efeito ($P>0,05$) sobre o volume urinário (VU), alantoína (ALA), ácido úrico (AcU), purinas totais (PT), purinas absorvidas (Pabs), nitrogênio microbiano (Nmic) e eficiência de síntese de proteína microbiana (Efi) (Tabela 6).

Segundo Gurtler et al. (1987), o volume urinário de um bovino adulto varia entre 5 a 10 L/dia, valores observados para produção de urina em todos os tratamentos. O volume urinário médio observado neste experimento (6,72 L/dia) foi superior ao volume reportado por Barbosa et al. (2006) para bovinos machos castrados da raça

Nelore (4,67 L/dia), e inferior aos observados por Chizzotti et al. (2006), em novilhas com peso médio de 453 kg (17,47 L/dia).

Tabela 6 - Eficiência de síntese de proteína microbiana em bovinos alimentados com níveis crescentes de GB

Variável	Níveis de GB na dieta (%)					Regressão	EPM	P<
	0	3	6	9	12			
VU	6,07	5,96	7,10	8,30	6,16	$\hat{Y} = 6,72$	0,56	0,15
ALA	144,06	151,95	155,36	156,31	138,58	$\hat{Y} = 149,45$	6,89	0,39
AcU	9,36	9,50	11,27	11,87	9,79	$\hat{Y} = 10,36$	0,96	0,29
DP	153,42	161,45	166,63	168,18	149,38	$\hat{Y} = 159,81$	7,40	0,35
Pabs	131,68	140,61	146,90	147,35	126,38	$\hat{Y} = 138,58$	8,67	0,38
Nmic	95,73	102,22	106,79	107,12	91,87	$\hat{Y} = 100,75$	6,30	0,38
Efic.	125,53	136,31	140,62	136,82	116,59	$\hat{Y} = 131,17$	8,47	0,30

VU – volume urinário (L/dia); ALA – Alantoína mmol/dia; AcU – Ácido Úrico (mmol/dia); DP – Derivativos purina (mmol/dia); Pabs – Purinas absorvidas (mmol/dia); N mic – Nitrogênio Microbiano (g/dia); Efic. – Eficiência de Síntese de Proteína Microbiana (g PB microbiana/kg de NDT consumido).

A excreção urinária média de alantoína obtida no estudo (149 mmol/dia) foi superior ao obtido por Wang et al. (2009), que trabalhando com níveis de 100, 200, e 300 g de glicerol por dia na dieta de novilhos Simental, observaram excreção de alantoína de 58, 64 e 60 mmol/dia, respectivamente.

O valor médio de ácido úrico neste estudo foi de 10,36 mmol/dia, também superior ao observado por Wang et al. (2009), que obtiveram valores de 7,38, 7,44 e 7,32 mmol/dia quando incluíram níveis de 100, 200 e 300 g de glicerol/dia, respectivamente, em dietas de novilhos.

A porcentagem de ácido úrico nos derivados de purinas (DP) varia de 15 a 20% e é muito constante no mesmo animal, mas variável entre animais (Chen & Gomes, 1992). Entretanto, neste experimento essa porcentagem variou de 3,9 a 5,3%, inferior ao observado por Castañeda et al. (2009) de 6,4 a 10,4% com novilhos Holandeses, e por Chizzotti et al. (2006), que obtiveram valor médio de 8,25% para a proporção de ácido úrico nas purinas totais em novilhas Holandesas com peso corporal médio de 523 kg.

O valor médio para eficiência de síntese de proteína microbiana, de 131,17 g PBmic/kg de NDT consumido, foi semelhante ao observado por Magalhães et al. (2005) que foi de 133,55 g PBmic/kg de NDT consumido, em novilhos que receberam dietas com níveis crescentes de ureia. No entanto, superior aos observados por Nascimento et al. (2010), que trabalhando com novilhos mestiços que receberam diferentes fontes

energéticas obtiveram valores entre 85 e 103 g de PBmic/kg de NDT consumido, em estudo “in vitro”.

O valor médio da eficiência de síntese de proteína microbiana de 131,2 g PBmic/kg de NDT consumido, observado neste experimento, foi próximo ao proposto pelo NRC, (2001) de 130,0 g PBmic/kg de NDT; e superior ao proposto por Valadares Filho et al. (2006) para bovinos em condições tropicais de 120,0 g PBmic/kg de NDT consumido. Assim, pode-se inferir que os valores estimados para a síntese microbiana estão dentro da normalidade e corroboram que a GB não altera negativamente o ambiente populacional dos microrganismos no rúmen.

Conclusões

A inclusão de 12% de glicerina bruta na dieta de bovinos de corte, com base na matéria seca, não influencia a ingestão de matéria seca, digestibilidade parcial e total dos nutrientes, a cinética ruminal nem a síntese de proteína microbiana. A digestibilidade intestinal e total do extrato etéreo melhora com a inclusão de GB na dieta. O pH e a concentração de nitrogênio amoniacal no líquido ruminal diminuem à medida que aumenta o nível de GB na dieta.

Conclui-se que a glicerina bruta pode ser utilizada na alimentação de bovinos de corte em nível de 12%, e pode ser considerada uma boa alternativa energética.

Referências

- ABUGHAZALEH, A.A.; ABO EL-NOR, S.; IBRAHIM, S.A. The effect of replacing corn with glycerol on ruminal bacteria in continuous culture fermenters. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.95, p.313-319, 2011.
- ABO EL-NOR, S.; ABUGHAZALEH, A.A.; POTU, R.B. et al. Effects of differing levels of glycerol on rumen fermentation and bacteria. **Animal Feeds Science and Technology**, v.162, p.99-105, 2010.
- A.O.A.C. (Association of Official Agricultural Chemists). **Official Methods of the Association of the Agricultural Chemists**. 15.ed. Washington, v.2. 1990.
- AVILA, J.S.; CHAVES, A.V.; HERNANDEZ-CALVA, M. et al. Effects of replacing barley grain in feedlot diets with increasing levels of glycerol on in vitro fermentation and methane production. **Animal Feed Science and Technology**, v.166-167, p.265-268, 2011.
- BARBOSA, A.M.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Efeito do período de coleta de urina, dos níveis de concentrado e de fontes protéicas sobre a excreção de creatinina, de ureia e de derivados de purina e a produção microbiana em bovinos Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.870-877, 2006.
- BERGNER, H.; KIJORA, C.; CERESNAKOVA, Z. et al. *In vitro* studies on glycerol transformation by rumen microorganisms. **Archiv für Tierernährung**. v.48, p.245-256, 1995.

- BRISSON, D.; VOHL, M.C.; ST-PIERRE, J. et al. Glycerol: a neglected variable in metabolic process. **BioEssays**, v.23, p.534-542, 2001.
- CASTAÑEDA, R. D.; BRANCO, A.F.; CONEGLIAN, S.M. et al. Substituição de ureia por cloreto de amônio em dietas de bovinos: digestibilidade, síntese de proteína microbiana, parâmetros ruminais e sanguíneos, **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.31, p.271-277, 2009.
- CHEN, X.B., MEJIA, A.T., KYLE, D.J. et al. Evaluation of the use of purine derivative: creatinine ratio in *spot* urine and plasma samples as an index of microbial protein supply in ruminants: studies in sheep. **Journal of Agriculture Science**, v.125, p.137-143, 1995.
- CHEN, X.B.; GOMES, M.J. **Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives- an overview of technical details**. Bucksburnd: Rowett Research Institute, International Feed Resources Unit, 1992. 21p. (Occasional publication).
- CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; LEÃO, M.I. et al. Casca de algodão em substituição parcial à silagem de capim-elefante para novilhos. 1. Consumo, degradabilidade e digestibilidade total e parcial. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.2093-2102, 2006.
- COLUCCI, P.E.; MACLEOD, G.K.; GROVUM, W.L. et al. Digesta kinetics in sheep and cattle fed diets with different forage to concentrate ratios at high and low intakes. **Journal of Dairy Science**, v.73, p.2143-2156, 1990.
- DEFRAIN, J.M; HIPPEN, A.R; KALSCHUR, K.F. et al. Feeding glycerol to transition dairy cows: effects on blood metabolites and lactation performance. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.4195-4206, 2004.
- DONKIN, S.S.; KOSER, S.L.; WHITE, H.M. et al. Feeding value of glycerol as a replacement for corn grain in rations fed to lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.5111-5119, 2009.
- ELAM, N.A.; ENG., K.S.; BECHTEL, B. et al. Glycerol from biodiesel production: considerations for feedlot diets. **Proceedings...** Tempe AZ: Southwest Nutrition Conference, 2008.
- FENNER, H. Methods for determining total volatile bases in rumen fluid by steam distillation. **Journal of Dairy Science**, v.48, p.249-251. 1965.
- FUJIHARA, T.; ORSKOV, E.R.; REEDS, P.J. et al. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agricultural Science**, v.109, p.7-12, 1987.
- GUNN, P.J.; NEARY, M.K.; LEMENAGER, R.P.; et al. Effects of crude glycerin on performances and carcass characteristics of finishing wether lambs. **Journal of Animal Science**, v.88, p.1771-1776, 2010.
- GÜRTLER, H. et al. **Fisiologia veterinária**. 4.ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1987. p.612.
- HOOVER, W.H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal of Dairy Science**, v.69, p.2755-2766, 1986.
- HUNGATE, R.E. **The rumen and its Microbes**. New York: Academic Press, 1966. inc., version, 1999-2001.
- JOHNS, A.T. Fermentation of glycerol in the rumen of sheep. **New Zealand Journal of Science and Technology**. v.35, p.262-269, 1953.
- KIJORA, C.; BERGNER, H.; GOTZ, K.P. et al. Research note: investigation on the metabolism of glycerol in the rumen of bulls. **Archiv für Tierernährung**, v.51, p.341-348, 1998.

- KREHBIEL. Ruminant and physiological metabolism of glycerin, **Journal of Animal Science**, v.86, p.392 (E Suppl 2), 2008.
- KRUEGER, N.A.; ANDERSON, R.C.; TEDESCHI, L.O. et al. Evaluation of feeding glycerol on free fatty acid production and fermentation kinetics *in vitro*, **Bioresource Technology**, v.101, p.8469–8472, 2010.
- LAGE, J.F.; PAULINO, P.V.R.; PEREIRA, L.G.R.; et al. Glicerina bruta na dieta de cordeiros terminados em confinamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.45, p.1012-1020, 2010.
- LEÃO, M.I.; VALADARES FILHO, S.C.; RENNÓ, L.N. et al. Consumos e digestibilidades totais e parciais de carboidratos totais, fibra em detergente neutro e carboidratos não-fibrosos em novilhos submetidos a três níveis de ingestão e duas metodologias de coleta de digestas abomasal e omasal. **Revista Brasileira de Zootecnia** v.34, p.670-678, 2005.
- MACH, N.; BACH, A.; DEVANT, D. Effects of crude glycerin supplementation on performance and meat quality of Holstein bulls fed high-concentrate diets. **Journal of Animal Science**, v.87, p.632–638, 2009.
- McALLISTER, T.A.; RODE, L.M.; MAJOR D.J. et al. The effect of ruminal microbial colonization on cereal grain digestion. **Canadian Journal of Animal Science**, v.70, p:571- 579, 1990.
- MAENG, W.J.; BALDWIN, R.L. Dynamics of fermentation of purified diet and microbial growth in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.59, p.636-642, 1976.
- MAGALHÃES, K.A.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Produção de proteína microbiana, concentração plasmática de ureia e excreções de ureia em novilhos alimentados com diferentes níveis de ureia ou casca de algodão. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.1400-1407, 2005.
- MYERS, W.D.; LUDDEN, P.A.; NAYIGHUGU, V. et al. Technical Note: a procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. **Journal of Animal Science**, v.82, p.179-183, 2004.
- NASCIMENTO, M. L.; PAULINO, M. F.; DETMANN, E. et al. Fontes de energia em suplementos múltiplos para novilhos em pastejo durante o período das águas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.861-872, 2010.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7 ed. Whashington, D.C. National Academic Press, 2001. 381 p.
- ØRSKOV, E.R. **Nutrición proteica de los rumiantes**. Zaragoza: Ed. Acribia. 1988. p.178.
- PAGGI, R. A; FAY, J. P; FERNANDEZ, H. M. Effect of short-chain acids and glycerol on the proteolytic activity of rumen fluid. **Animal Feed Science and Technology**, v.78, 341–347, 1999.
- PARSONS, G.L.; SHELOR, M.K.; DROUILLARD, J.S. Performance and carcass traits of finishing heifers fed crude glycerin. **Journal of Animal Science**, v.87, p.653-657, 2009.
- ROGER, V.; FONTY, G.; ANDRE, C. et al. Effects of glycerol on the growth, adhesion and cellulolytic activity of rumen cellulolytic bacteria and anaerobic fungi. **Current Microbiology**, v.25, p.197-201, 1992.
- SCHNEIDER, C.J. **Crude glycerin in feedlot cattle diets and as a solvent in maillard reaction processes intended for manufacturing value-added protein meals**, B.S., Kansas State University, 2008, MASTER OF SCIENCE, Department of Animal Sciences and Industry College of Agriculture, KANSAS STATE UNIVERSITY Manhattan, Kansas. 2010.

- SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production *in vitro*. **British Journal of Nutrition**, v.32, p.199, 1974.
- SCHRÖDER, A.; SÜDEKUM, K.-H. **Glycerol as a by-product of biodiesel production in Diets for ruminants**. Kiel: University of Kiel, 2007. Disponível em: <<http://regional.org.au/au/gcirc/1/241htm>> Acesso em: 19 jul. 2011.
- SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; Van SOEST, P.J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3562-3577, 1992.
- TRABUE, S.; SCOGGIN, K.; TJANDRAKUSUMA, S. et al. Ruminal fermentation of propylene glycol and glycerol. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.55, p.7043-7051, 2007.
- UDEN, P.; COLLUCCI, P.E.; VAN SOEST, P.J. Investigation on chromium, cerium and cobalt as markers in ingest. Rate passage studies. **Journal of Science Food and Agriculture**, v.31, p.625-632, 1980.
- VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, P.V.R.; MAGALHÃES, K.A. **Exigências nutricionais de zebuínos e tabelas de composição de alimentos BR-CORTE**. Viçosa, MG: UFV, DZO, 2006b. 142p.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ithaca, New York: Cornell. 1994. p.476.
- VERBIC, J.; CHEN, X.B.; MACLEOD, N.A. et al. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal of Agricultural Science**, v.114, p.243-246, 1990.
- WANG, C.; LIU, Q.; YANG, W.Z. et al. Effects of glycerol on lactation performance, energy balance and metabolites in early lactation Holstein dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v.151, p.12-20, 2009.

III – Efeitos da Substituição da ureia por ureia de liberação lenta em dietas de bovinos de corte sobre a digestibilidade dos nutrientes, síntese microbiana, fermentação e cinética ruminal

Resumo: Objetivou-se avaliar os efeitos do fornecimento de diferentes níveis de ureia de liberação lenta (ULL= Optigen[®] II) em substituição à ureia (feed grade) em dietas para bovinos, sobre o consumo voluntário, coeficiente de digestibilidade aparente ruminal (CDR), intestinal (CDI) e total (CDT) dos nutrientes, síntese de proteína microbiana, fermentação e cinética ruminal e nitrogênio ureico no plasma (NUP). Foram utilizados quatro novilhos mestiços Nelore (565 kg ± 45 kg), providos com cânula ruminal, num delineamento em quadrado latino 4 x 4. Os tratamentos consistiram em níveis crescentes de ureia de ULL na dieta, sendo: 0 ULL= 100% ureia; 33 ULL= 66% ureia e 33% Optigen[®] II; 66 ULL= 33% ureia e 66% Optigen[®] II e 100 ULL= 100% Optigen[®] II. A ingestão de matéria seca (IMS), CDR, CDI e CDT da matéria seca (MS), proteína bruta (PB), e carboidratos não-fibrosos (CNF) não foram influenciados ($P>0,05$) pelos tratamentos. Porém, o fluxo ruminal da MS, matéria orgânica (MO) e PB caíram linearmente ($P<0,05$) à medida que aumentou o nível de ULL na dieta. O CDR da fibra em detergente neutro (FDN) aumentou linearmente ($P<0,05$) em resposta à inclusão de ULL. A substituição da ureia pela ULL não influenciou ($P>0,05$) a síntese de proteína microbiana, fermentação e cinética ruminal e NUP. Os resultados do estudo mostram que a utilização da ULL na dieta de bovinos de corte melhorou a digestibilidade aparente ruminal da fibra, porém os demais parâmetros estudados não foram influenciados pela substituição da ureia pela ULL.

Palavras-chave: gado de corte, ruminantes, ureia protegida

Effects of Replacement of urea by slow release urea in beef cattle diets on nutrient digestibility, microbial protein synthesis, fermentation and kinetic rumen

Abstract: The objective of this study was to evaluate the effects of replacing urea (feed grade) by slow release urea (SRU=Optigen[®] II) in the diet on nutrient digestibility, microbial protein synthesis, fermentation and rumen kinetic, and plasma urea nitrogen (PUN) in steers. Four ruminally cannulated Nelore steers (565±45 kg) were used in a 4×4 Latin square design with experimental period lasting 21 days. Treatments were: 0SRU= 100% urea; 33SRU= 66% urea e 33% Optigen[®] II; 66SRU= 33% urea e 66% Optigen[®] II e 100SRU= 100% Optigen[®] II. The dry matter intake (DMI), ruminal apparent digestibility coefficient (RDC), intestinal apparent digestibility (IDC) and total apparent digestibility (TDC) of dry matter (DM), crude protein (CP), and carbohydrates non-fiber carbohydrates (NFC) were not affected ($P>0.05$) by treatments. Rumen outflow of DM, organic matter (OM) and CP were lower ($P<0.05$) as the level of SRU in the diet increased. The RDC and IDC of neutral detergent fiber (NDF) increased linearly ($P> 0.05$) as the level of SRU in the diet increased. The replacement of urea by SRU showed no difference ($P>0.05$) in the synthesis of microbial protein, rumen fermentation and kinetics, and PUN. According to information obtained in this study, the use of SRU in the diet of beef cattle, improved the rumen digestibility of the fiber. However the other parameters were not affected replacing urea by SRU.

Key words: beef cattle, coated urea, ruminants

Introdução

A fonte mais comum de nitrogênio não-proteico (NNP), utilizada na alimentação de ruminantes é a ureia, pelo seu baixo custo e por seu elevado equivalente proteico de 281%, sendo que uma unidade de ureia na dieta pode substituir cinco unidades de farelo de soja (Pinos et al., 2010). No entanto, no rúmen, a ureia é rapidamente hidrolisada à amônia, porém a degradação de carboidratos e o crescimento microbiano ocorrem mais lentamente, assim a rápida liberação de amônia no rúmen provoca ineficiente utilização do nitrogênio pelos microrganismos (Satter e Roffler, 1975).

Visando facilitar a adaptação dos animais à ureia e sincronização das taxas de degradação de nutrientes no rúmen, tem sido proposto o uso de fontes de NNP de liberação lenta, de modo a garantir que os níveis de amônia ruminal permaneçam relativamente constantes ao longo do dia (Azevedo et al., 2010).

Uma fonte de NNP de liberação lenta poderia diminuir os riscos de intoxicação causados pela ureia, aumentar o espaço para inclusão de ingredientes na dieta, substituir fontes de proteína verdadeira de alto custo e/ou disponibilidade limitada, e melhorar o sincronismo de nutrientes no rúmen, sem comprometer o desempenho produtivo (Souza et al., 2010). Pela necessidade de adaptação dos animais à ureia e com base na hipótese de sincronização das taxas de degradação de nutrientes no rúmen, é importante o uso de fontes de nitrogênio que mantenham os níveis de amônia ruminal constantes ao longo do dia. Com esse intuito, algumas tentativas e produtos têm sido lançados ao mercado. Todavia, a forma de se proteger a ureia tem sido o grande desafio, assim são desenvolvidos compostos com polímeros (Optigen[®] e Optigen[®]1200), compostos com poliuretano (Xin et al., 2010), ureia encapsulada (Taylor-Edwards et al., 2009), ureia fisicamente encapsulada por ceras vegetais (Optigen[®]II), entre outras. Alguns desses compostos para proteger a ureia não foram tão vantajosos, pois parte do NNP está deixando o rúmen sem ser degradado em NH₃, reduzindo assim sua incorporação à proteína microbiana (Firkins et al., 2007).

O Optigen[®]II surge como uma alternativa promissora e eficiente de NNP de liberação lenta. O produto visa diminuir a velocidade de hidrólise da ureia e otimizar a disponibilidade de energia necessária para transformar o nitrogênio amoniacal em microbiota ruminal.

Com um equivalente proteico de 256%, o Optigen[®]II leva de 16 à 24h para ser degradado no rúmen, sendo que a sua solubilização é mais lenta e constante do que a

ureia convencional. Com isto, evita-se o desequilíbrio entre a liberação de energia e nitrogênio (Azevedo et al., 2010).

Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos de dietas com diferentes níveis de substituição de ureia por ULL em bovinos sobre a digestibilidade aparente dos nutrientes da dieta, síntese de proteína microbiana, fermentação e cinética ruminal e nitrogênio ureico no plasma (NUP).

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Setor de Avaliação de Alimentos para Animais Ruminantes da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI) e no Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal (LANA), pertencentes à Universidade Estadual de Maringá (UEM).

Foram utilizados quatro novilhos da raça Nelore, pesando em média 565 ± 45 kg e providos de cânula ruminal. Os animais foram alojados em baias individuais cobertas, com $8,75 \text{ m}^2$ de área útil, dotadas de comedouro individual e bebedouro automático. A alimentação foi fornecida na forma de mistura completa, à vontade, duas vezes ao dia, às 08h e às 16h. O experimento foi conduzido em delineamento experimental quadrado latino 4×4 , com período experimental de 21 dias, sendo os 15 primeiros destinados à adaptação dos animais às dietas e os seis últimos, para coleta de amostras (alimentos oferecidos, sobras, fezes, líquido ruminal, digesta omasal, urina e sangue).

O consumo foi ajustado de modo à obtenção de 5 a 10% de sobras em relação à matéria natural do alimento fornecido. O consumo diário foi calculado pela diferença entre o fornecido e as sobras com base na matéria seca.

A proporção entre volumoso e concentrado, na matéria seca, foi de 40:60. A composição química e percentual dos alimentos e das dietas experimentais pode ser observada nas Tabelas 1 e 2.

Os tratamentos consistiram na substituição da ureia pela ureia de liberação lenta, sendo: 0 ULL = 100% ureia; 33 ULL = 66% ureia e 33% Optigen[®] II; 66 ULL = 33% ureia e 66% Optigen[®] II e 100 ULL = 100% Optigen[®] II.

Para se determinar a digestibilidade parcial e total da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), da proteína bruta (PB), estrato etéreo (EE), da fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína (FDNcp) e carboidratos não-fibrosos (CNF), foram coletadas amostras de digesta omasal (~500 mL) por meio do orifício retículo

omasal por sucção, segundo técnica descrita por Leão et al. (2005) e, de fezes (~200 g) diretamente na ampola retal.

Tabela 1 - Composição química dos alimentos utilizados nas dietas experimentais (%)

Alimentos	MS	PB	EE	MM	FDNcp	FDA
Silagem de sorgo	27,6	6,8	2,1	5,1	66,0	39,5
Milho	88,8	8,5	4,7	1,2	12,4	3,2
Farelo de trigo	87,6	19,0	2,8	3,7	27,7	10,0
Ureia	99,0	281,0	-	-	-	-
Optigen® II	99,0	256,0	-	-	-	-
Glicerina bruta ¹	89,1	0,3	-	6,4	-	-

¹Contendo: 73,5% de glicerol, 6,0 de ácidos graxos livres, 1,52% de metanol e 0,05% de etanol. Fonte: Indústria Biopar, Rolândia-PR.

As amostras de digesta omasal e de fezes foram coletadas a partir do 14^o dia, por um período total de seis dias, em diferentes horários (0; 2; 4; 6; 8 e 10h após a primeira alimentação), totalizando seis amostras de digesta omasal e seis amostras de fezes por animal/tratamento/período.

Tabela 2 - Composição percentual e química das dietas experimentais

	Composição das dietas experimentais (% na MS)			
	0 ULL	33 ULL	66 ULL	100 ULL
Silagem de sorgo	40,00	40,00	40,00	40,00
Milho	24,70	24,65	24,60	24,55
Farelo de trigo	20,00	20,00	20,00	20,00
Glicerina bruta	12,00	12,00	12,00	12,00
Carbonato de cálcio	1,00	1,00	1,00	1,00
Cloreto de sódio	0,30	0,30	0,30	0,30
Premix mineral ¹	0,50	0,50	0,50	0,50
Ureia	1,50	1,00	0,50	0,00
Optigen® II	0,00	0,55	1,10	1,65
PB	12,63	12,63	12,62	12,62
EE	4,05	4,05	4,05	4,05
FDNcp	36,56	36,56	36,56	36,56
CNF ²	44,43	44,44	44,45	44,46
NDT ²	71,0	71,0	71,0	71,0

¹Premix mineral: 0,023% Iodato de Cálcio, 1,0127% Óxido de Zinco, 0,0089% Selênio de Sódio, 0,03% Sulfato de Cobalto, 1,2% Sulfato de Cobre, 2,07% Sulfato de Manganês.

²Calculados, segundo Sniffen et al. (1992).

Para determinação do fluxo omasal e da produção fecal, foi ministrada uma dose diária de 10 g de dióxido de titânio (TiO₂) diretamente no rúmen, a partir do sétimo dia de cada período experimental. As amostras de digesta omasal e de fezes foram

acondicionadas em sacos plásticos, devidamente identificados e mantidas congeladas a -20°C . Posteriormente, as amostras de digesta omasal e de fezes foram pré-secas em estufa de circulação forçada de ar a 55°C por 72h, moídas em moinhos tipo *Willey*, utilizando peneira com crivos de 1 mm e, em seguida, amostras foram misturadas com base no percentual do peso seco, para obtenção de amostras compostas de digesta omasal e fezes por animal/tratamento/período.

As sobras do alimento fornecido foram recolhidas diariamente dos comedouros, durante todo o período experimental e, em seguida, pesadas e homogeneizadas para posteriormente realizar uma amostra composta por animal em cada período. As amostras de silagem de sorgo, milho e farelo de trigo foram coletadas uma vez por período experimental.

As amostras dos alimentos utilizados nas dietas experimentais, das sobras, de digesta omasal e de fezes foram analisadas determinando-se os teores de MS, MO, PB, EE e Ca (AOAC, 1990), FDNcp (Van Soest et al., 1991). Os carboidratos não-fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT) foram obtidos pelas equações de Sniffen et al. (1992). As amostras de digesta omasal e de fezes foram analisadas para titânio, segundo Myers et al. (2004).

Durante o 21º dia, foram coletadas, via cânula ruminal, amostras de líquido ruminal para determinação do pH, concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH_3) e cobalto. A primeira coleta foi iniciada imediatamente antes do fornecimento da primeira alimentação do dia, sendo esta considerada o tempo 0 e as próximas 2, 4, 6, 8, 12, 14 e 24h após a primeira alimentação. Após cada coleta de líquido ruminal, o pH era medido imediatamente com auxílio de um peagâmetro digital (Digimed DM20).

Para determinação do N-NH_3 uma alíquota de 50 mL de líquido ruminal foi acidificada com 1 mL de H_2SO_4 (1:1) e armazenada a -20°C , para posterior análise. O líquido ruminal foi descongelado em temperatura ambiente e posteriormente centrifugado a 3.000 xg por 15 min. A concentração de N-NH_3 das amostras de líquido ruminal foi determinada, segundo Fenner (1965).

Para determinação da cinética da fase líquida foram administrados no rúmen de cada animal, 30 g de Co-EDTA diluídos em 500 mL de água destilada antes da primeira alimentação, diretamente no rúmen, em diferentes locais, em dose única (Udén et al., 1980) e coletados 50 mL de líquido ruminal.

A taxa de passagem de líquido e as curvas de concentração ruminal do Co-EDTA foram ajustadas ao modelo exponencial unicompartmental de Hungate (1966), $Y_{co} =$

$A \cdot e^{(-k \cdot t)}$, em que Y_{co} = concentração do indicador no tempo t ; A = concentração de equilíbrio do cobalto (tempo zero); k_p = taxa de passagem ou de diluição do cobalto; e t = tempo de amostragem. Os parâmetros da dinâmica da fase líquida foram calculados de acordo com Colucci et al. (1990) sendo: tempo de retenção no rúmen (TR, %/h) = $1/k_l$; volume de líquido ruminal (VR, L) = quantidade de cobalto fornecida (mg) / A (mg/L); taxa de reciclagem da fase líquida ruminal (TRec, vezes/dia) = $24h/TR$, calculada conforme Maeng e Baldwin (1976).

Foram coletadas quatro amostras spot de urina, do 17º ao 20º dia de cada período experimental, entre 3 e 4h após o fornecimento dos alimentos (pela manhã), durante micção espontânea. Imediatamente após a coleta, a urina foi homogeneizada e em seguida, filtrada através de filtros de tela, e alíquotas de 10 mL foram diluídas imediatamente em 40 mL de H_2SO_4 a 0,036 N (Chen et al., 1995). Estas amostras tiveram o pH ajustado para valores inferiores a 3, para evitar destruição bacteriana dos derivados de purinas e precipitação do ácido úrico, e foram armazenadas a $-20^\circ C$ para posteriores análises de alantoína e ácido úrico. Uma subamostra de urina sem ácido foi levada no mesmo dia no laboratório para determinar a concentração de creatinina na urina pelo método de ponto final utilizando-se picrato e acidificante (GoldAnalisa[®]).

A partir da excreção média de creatinina, obtida por Barbosa et al. (2006) para bovinos da raça Nelore castrados (27,39 mg/kg), e da concentração de creatinina (mg/L) na amostra de urina, foi estimado o volume diário de urina. Esse volume foi utilizado para estimar as excreções diárias de alantoína e ácido úrico de cada animal.

As análises de alantoína na urina foram feitas pelo método colorimétrico, conforme a técnica de Fujijara et al. (1987), descrita por Chen & Gomes (1992). A concentração de ácido úrico na urina foi realizada utilizando-se kits comerciais (Labtest[®]). A excreção total de derivados de purinas foi o resultado das excreções urinárias de alantoína e ácido úrico. As purinas microbianas absorvidas (X, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas (Y, mmol/dia), utilizando-se a equação: $Y = 0,85X + 0,385PV^{0,75}$; em que 0,85 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados de purina na urina, e $0,385PV^{0,75}$ representa a contribuição endógena para a excreção de purinas (Verbic et al., 1990).

O fluxo intestinal de compostos nitrogenados microbianos (Nmic, g N/dia) foi calculado a partir das purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) utilizando-se a equação: $Nmic = (70 \cdot Pabs) / (0,83 \cdot 0,116 \cdot 1000)$, em que o valor 70 corresponde ao conteúdo de N nas purinas (mg N/mmol); o valor 0,83 é a digestibilidade das purinas

microbianas; e o valor 0,116 a relação N purina:N total dos microrganismos ruminais (Chen & Gomes, 1992).

No 18º dia de cada período foi coletada uma amostra de sangue, antes da primeira alimentação (8h), por punção da veia jugular, utilizando-se a heparina como anticoagulante. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas por 15 min a 2.500 xg e o plasma foi transferido para microtubos. O plasma resultante foi armazenado a -20°C para posterior análise de nitrogênio ureico no plasma, utilizando-se kits comerciais (GoldAnalisa®).

O delineamento experimental utilizado foi o Quadrado Latino 4x4. Os dados foram interpretados por Anova adotando-se 5% de probabilidade, procedeu-se a análise de regressão polinomial quando houve efeito significativo para tratamento.

Os dados referentes aos valores de pH e às concentrações de N-NH₃ no líquido ruminal foram inicialmente ajustados em uma equação para pH e outra para N-NH₃, em função do tempo, para cada animal, dentro de período e cada tratamento. Com estas equações foram calculados por animal/período/tratamento, o tempo transcorrido para atingir o máximo de acidez (pH) e as concentrações máximas e mínimas de N-NH₃. Esses pontos críticos foram analisados como variáveis biológicas, por Anova e quando significativos, foram ajustadas equações de regressão em função do nível de substituição da ureia pelo Optigen®II na dieta. Todos os procedimentos estatísticos foram conduzidos utilizando-se o programa SAS (*Statistical Analysis System*, versão 9.1).

Resultados e Discussão

A ingestão de MS (IMS) não foi influenciada pelos tratamentos ($P>0,05$), sendo observado valor médio de 11,1 kg de MS/dia, correspondendo a 1,97% com relação ao peso vivo. Vários trabalhos têm demonstrado que inclusão de ureia na dieta diminui a IMS (Conrad et al., 1977; Oliveira et al., 2001; Silva et al., 2001), quando comparada ao farelo de soja, assim, era esperado um consumo maior com a adição do Optigen®II, porém, esse comportamento não foi observado. A ingestão de MO, PB, FDN, e CNF também não foi influenciada ($P>0,05$) pela inclusão de Optigen®II na dieta em substituição à ureia (Tabela 3).

Esses resultados corroboram com os descritos por Galo et al. (2003) que também não observaram diferenças na IMS quando alimentaram vacas leiteiras com dietas contendo 50% de volumoso e 50% de concentrado, nas quais foi utilizada a ureia

protegida com polímero (Optigen[®]1200) em nível de 0,77% da MS. Kononoff et al. (2006) também reportaram que não houve diferenças na IMS quando substituíram o farelo de soja por 1,3% da matéria seca de Optigen[®]1200 em dietas para novilhos holandeses com 75% de volumoso, sendo relatados valores de IMS de 5,34 e 5,30 kg/dia para os tratamentos com farelo de soja e Optigen[®]1200, respectivamente. Já, Pinos et al. (2010) relataram diminuição na IMS em gado de corte, quando substituíram o farelo de soja pelo Optigen[®]1200, observando valores de 13,4 e 12,9 kg/dia para os tratamentos com farelo de soja e Optigen[®]1200, respectivamente.

Por outro lado, Ribeiro et al. (2011), trabalhando com feno de baixa qualidade e suplementados com ureia, ou Optigen[®]1200 ou com a mistura 50% ureia e 50% Optigen[®]1200, observaram maior consumo nos animais que receberam nitrogênio de liberação lenta, com valores de 7,69, 7,95, 9,82 e 9,36 kg de MS/dia, respectivamente.

Com relação ao CDR, CDI e CDT da MS, PB, EE e CNF também não foram verificadas diferenças ($P > 0,05$) entre os tratamentos (Tabela 3). O fluxo omasal da MS, MO, PB e FDN apresentou comportamento linear decrescente ($P < 0,05$) quando a ureia foi substituída pela ureia de liberação lenta na dieta. Esse comportamento teve efeito direto ($P < 0,05$) sobre CDR do FDN, que passou de 30,0 (0ULL) para 35,3% (100ULL). Mas essa resposta não se manteve em relação ao CDT do FDN, apesar de ter passado de 37,3 (0ULL) para 40,7% (100ULL).

Puga et al. (2001), trabalhando com ureia protegida em dietas com alta forragem, observaram aumento significativo na digestibilidade, possivelmente pela melhora na atividade dos microrganismos responsáveis pela fermentação da fibra no rúmen.

Segundo Ørskov (1999), altas digestibilidades são observadas quando há elevados teores de fibra associadas a fontes de ureia de liberação lenta. Porém, o teor de FDN nas dietas experimentais deste estudo foi de 36,6%.

Assim, é possível que em dietas com maior proporção de volumoso as fontes de NNP de liberação lenta tenham maior efeito. Galo et al. (2003) também reportaram que a digestibilidade total de MS e PB em vacas em lactação aumentou quando foi utilizada como fonte de NNP ureia de liberação lenta com polímero (Optigen[®]). Estes resultados foram confirmados por Xin et al. (2010), que trabalhando com 1,7% de NNP na dieta de vacas leiteiras, observaram maior IMS e digestibilidade de nutrientes, nas dietas com ureia revestida de poliuretano em relação aos animais suplementados com ureia comum.

Tabela 3 - Ingestão (ING), fluxo fecal (FF), fluxo omasal (FO), coeficiente de digestibilidade aparente ruminal (CDR), e coeficiente de digestibilidade aparente intestinal (CDI) e coeficiente de digestibilidade aparente total (CDT) da MS, MO, PB, FDNcp, EE e CNF, em função dos níveis de substituição da ureia pela ULL.

Variáveis	Tratamentos				Regressão	EPM	P <
	0ULL	33ULL	66ULL	100ULL			
ING (g/dia)	11309	11236	11085	10862	$\hat{Y} = 11122,8$	171,6	0,35
FO (g/dia)	6522	5628	5453	5140	$\hat{Y} = 6766 - 431,9X$	282,8	0,01
M FF (g/dia)	4047	3948	3681	3796	$\hat{Y} = 3868,1$	235,0	0,71
S CDR (%)	42,3	49,7	50,8	52,6	$\hat{Y} = 48,9$	3,1	0,19
CDI (%)	38,0	29,8	32,6	25,9	$\hat{Y} = 31,6$	3,5	0,18
CDT (%)	63,9	64,8	66,6	64,9	$\hat{Y} = 65,0$	2,6	0,87
ING (g/dia)	10542	10470	10319	10113	$\hat{Y} = 10361,3$	159,6	0,33
FO (g/dia)	5647	4897	4719	4440	$\hat{Y} = 5876 - 379,9 X$	254,0	0,01
M FF (g/dia)	3601	3509	3276	3374	$\hat{Y} = 3439,8$	201,8	0,69
O CDR (%)	46,4	53,0	53,9	56,1	$\hat{Y} = 52,3$	3,0	0,20
CDI (%)	36,2	28,1	30,8	23,9	$\hat{Y} = 29,8$	3,7	0,15
CDT (%)	65,5	66,3	68,1	66,6	$\hat{Y} = 66,6$	2,4	0,87
ING (g/dia)	1408	1395	1381	1345	$\hat{Y} = 1382,2$	20,6	0,25
FO (g/dia)	1116	974	948	874	$\hat{Y} = 1166 - 75,3 X$	56,0	0,03
P FF (g/dia)	519	515	478	494	$\hat{Y} = 501,3$	29,0	0,73
B CDR (%)	20,4	29,8	31,2	34,9	$\hat{Y} = 29,0$	5,0	0,38
CDI (%)	53,4	47,0	49,7	43,2	$\hat{Y} = 48,3$	2,1	0,20
CDT (%)	62,9	62,9	65,1	63,1	$\hat{Y} = 63,5$	2,7	0,90
F ING (g/dia)	4128	4085	3971	3993	$\hat{Y} = 4044,2$	52,0	0,21
D FO (g/dia)	2881	2779	2654	2570	$\hat{Y} = 2720,8$	47,5	0,14
N FF (g/dia)	2558	2483	2283	2325	$\hat{Y} = 2412,3$	123,6	0,42
c CDR (%)	30,0	31,8	33,2	35,6	$\hat{Y} = 28,2 + 1,7X$	1,2	0,03
p CDI (%)	10,9	10,6	13,9	9,5	$\hat{Y} = 11,2$	3,9	0,78
CDT (%)	37,8	39,0	42,4	41,7	$\hat{Y} = 40,3$	3,51	0,72
ING (g/dia)	366	361	361	350	$\hat{Y} = 360,0$	5,8	0,36
FO (g/dia)	279	266	260	257	$\hat{Y} = 265,6$	12,4	0,62
E FF (g/dia)	67	68	62	66	$\hat{Y} = 65,8$	7,1	0,94
E CDR (%)	22,7	25,5	26,7	26,0	$\hat{Y} = 25,2$	3,8	0,89
CDI (%)	76,0	74,6	73,8	74,2	$\hat{Y} = 74,6$	3,5	0,97
CDT (%)	81,4	81,3	82,8	80,9	$\hat{Y} = 81,6$	2,2	0,93
ING (g/dia)	5065	5055	5053	4837	$\hat{Y} = 5002,5$	91,7	0,32
FO (g/dia)	1320	853	952	667	$\hat{Y} = 947,9$	168,3	0,24
C FF (g/dia)	457	442	453	489	$\hat{Y} = 460,4$	76,5	0,97
N CDR (%)	73,2	82,9	80,6	85,8	$\hat{Y} = 80,6$	3,5	0,17
F CDI (%)	60,3	7,4	43,7	8,3	$\hat{Y} = 29,1$	33,6	0,60
CDT (%)	90,8	91,3	90,9	89,6	$\hat{Y} = 90,6$	1,6	0,88
NDT ¹	68,2	68,8	70,8	68,4	$\hat{Y} = 69,0$	2,3	0,84

¹Calculado, segundo Sniffen et al. (1992). EPM = erro-padrão da média, P = valor de P.

Resultados diferentes foram obtidos por Azevedo et al. (2010) em estudo realizado com novilhos alimentados com feno de baixa qualidade. Esses autores verificaram que a inclusão de ULL em substituição à ureia, em suplementos proteicos, não produziu resultados diferentes, com relação à degradação da fibra e fermentação

ruminal dos demais nutrientes. Segundo os mesmos autores, esses resultados ocorreram provavelmente em razão da baixa eficiência de proteção da ureia, verificada pelo fato da liberação de amônia no rúmen ter sido semelhante ao longo do tempo.

Talvez a melhor forma para se analisar as fontes de NNP seja os parâmetros de fermentação ruminal (pH e NH_3), já que é no rúmen que ocorre a degradação dos substratos e aparecimento dos produtos. Neste estudo, todavia, a substituição da ureia pela ureia de liberação lenta não influenciou os pontos críticos de máxima e mínima e nem os valores médios de pH e N-NH_3 (Tabela 4).

Tabela 4 - Ponto crítico (horas: minutos) e valores do pH e N-NH_3 do líquido ruminal no período de 0 a 8h após a primeira alimentação em função da substituição da ureia pela ULL

Variáveis	Tratamentos				Regressão	EPM	P<
	0 ULL	33 ULL	66 ULL	100 ULL			
PCmín ¹ pH (h:m)	5:35	4:56	4:39	4:36	$\hat{Y}=4,94$	0,3	0,17
pHmín	6,53	6,47	6,54	6,51	$\hat{Y}=6,51$	0,1	0,76
pH médio ³	6,67	6,64	6,71	6,68	$\hat{Y}=6,68$	0,3	0,33
PCmax N-NH ₃ (h:m)	2:07	2:02	2:10	2:07	$\hat{Y}=2,11$	0,1	0,56
PCmín ² N-NH (h:m)	6:48	6:37	6:27	6:43	$\hat{Y}=6,65$	0,2	0,47
N-NH ₃ max (mg/dL)	23,82	23,20	19,00	19,76	$\hat{Y}=21,44$	1,8	0,24
N-NH ₃ mín (mg/dL)	3,83	3,21	6,14	5,21	$\hat{Y}=4,60$	1,2	0,40
N-NH ₃ médio ³ (mg/dL)	12,57	12,12	11,66	11,44	$\hat{Y}=11,94$	0,8	0,74

¹PCmín = Ponto crítico de mínima durante o período de 8h após a primeira alimentação. ²PCmax = Ponto crítico de máxima durante o período de 8h após a primeira alimentação, ³Valor médio durante o período de 0 a 8h após a primeira alimentação.

O ponto crítico de mínima (PCmín) para o pH tendeu a ser menor à medida que a porcentagem de ULL aumentou nas dietas, passando de 5:35 para 4:36 (horas: minutos) nos tratamentos 0ULL e 100ULL, respectivamente (Tabela 4). Apesar de ter chegado quase 1h mais rápido ao PCmín, não houve diferenças ($P>0,05$) entre os tratamentos no pHmín e pH médio (Tabela 4). Um comportamento similar foi reportado por Paula et al. (2009) trabalhando com 7 gr/dia de Optigen[®] ou ureia em vacas leiteiras. Em estudo realizado com novilhos alimentados com feno de baixa qualidade e ureia encapsulada em substituição à ureia, Azevedo et al. (2010) também não observaram diferenças no pH em diferentes horários.

Neste estudo, todos os valores de pH estão acima do valor considerado mínimo desejável (6,2) para promover adequada fermentação da fibra e não prejudicar a atividade dos microrganismos celulolíticos (Hoover, 1986; Oskov, 1988; e Van Soest,

1994). Já Ribeiro et al. (2011), substituindo a ureia pelo Optigen[®]1200 observaram valores de pH médio maiores para o tratamento com ureia.

O ponto crítico de máxima (PCmax) e o ponto crítico de mínima (PCmin) para o N-NH₃ também foram semelhantes entre os tratamentos (P>0,05), e os valores observados variaram de 2:02 a 2:10 (horas:minutos) para o PCmax, e de 6:27 a 6:48 (horas:minutos) para o PCmín (Tabela 4). As concentrações de N-NH₃max, N-NH₃mín e N-NH₃ médio não foram influenciadas pela inclusão de ULL na dieta (Tabela 4). Porém, verificou-se que só nos tratamentos 66ULL e 100ULL, as concentrações de N-NH₃ no rúmen se mantiveram superiores a 5 mg/dL, considerados como mínimos para adequada fermentação ruminal da parede celular (Satter e Slyter, 1974).

Nesse sentido, os menores valores de N-NH₃ observados nos tratamentos 0ULL e 33ULL (3,83 e 3,21 mg/dL, respectivamente) podem ter influenciado em algum momento a fermentação da fibra (Tabela 3). Todavia esse comportamento não afetou a síntese de proteína microbiana (Tabela 6). O N-NH₃ médio foi de 12,57 para 11,44 mg/dL nos tratamentos 0ULL e 100ULL (Tabela 4), respectivamente. Estes resultados juntamente com os dados de N-NH₃mín indicam que houve a liberação mais constante de N-NH₃ nos tratamentos com maior inclusão de ULL, todavia isto não foi constatado estatisticamente. Taylor-Edwards et al. (2009), trabalhando com ureia e ureia protegida em nível de 1,8% da MS da dieta, observaram concentração de N-NH₃ 58% maior com a ureia em comparação com a ureia protegida. Os mesmos autores relatam que as concentrações de N-NH₃ nas duas primeiras horas aumentaram 25% e 147% 8h após.

Resultados de que as fontes de NNP de liberação lenta promovem melhoria na fermentação ruminal foram observados por Puga et al. (2001), quando a adição de 10, 20 ou 30% ureia protegida melhorou a produção de N-NH₃. Paula et al. (2009), trabalhando com vacas mestiças, observaram que a ureia protegida com polímero (Optigen[®]) promoveu uma produção mais constante de N-NH₃ no ambiente ruminal, e proporcionou maior estabilidade do pH, durante um período de observação de 24h. Taylor-Edwards et al. (2009) relatam que a ureia de lenta liberação promoveu um controle da amônia no rúmen sem afetar os metabolitos produzidos na fermentação ruminal. Da mesma maneira, Ribeiro et al. (2011) afirmam que o ambiente ruminal em relação ao pH e concentração de NH₃ melhorou, quando novilhos de corte foram suplementados com uma fonte de NNP de liberação lenta (Optigen[®]1200).

Analisando os resultados do presente estudo e da literatura, sugere-se que em dietas com maior proporção de volumoso a ureia de liberação lenta pode ser mais interessante.

Várias pesquisas que utilizaram maiores proporções de volumoso concluíram que a fonte de ureia de liberação lenta promoveu maior e mais constante produção de N-NH₃ (Paula et al., 2009; Xin et al., 2010; Ribeiro et al., 2011).

A taxa de passagem (Kp) não foi influenciada ($P>0,05$) pelos níveis de ULL (Tabela 5). O valor médio de Kp neste experimento (9,38%/hora) foi superior ao reportado por Owens e Goetsch (1986) de 6,7%/hora para rações com inclusão de concentrado entre 50 e 80%. Entretanto, foi próximo ao observado por Bürger et al. (2000) de 10,2%/hora, em bovinos consumindo a mesma proporção volumoso:concentrado deste experimento.

Tabela 5 - Cinética ruminal em função do nível de substituição da ureia pela ULL

Variáveis	Tratamentos				Regressão	EPM	P<
	0 ULL	33 ULL	66 ULL	100 ULL			
Kp (%/hora)	10,00	9,20	8,68	9,62	$\hat{Y} = 9,38$	0,62	0,52
VR (Litros)	90,91	89,56	90,88	93,28	$\hat{Y} = 91,16$	4,27	0,94
TR (horas)	10,39	11,14	11,93	10,52	$\hat{Y} = 11,00$	0,84	0,59
TRec (vezes/dia)	2,40	2,21	2,08	2,31	$\hat{Y} = 2,25$	0,15	0,52

Kp = taxa de passagem da fase líquida; VR = volume ruminal; TR = tempo de retenção; TRec = taxa de reciclagem.

O volume ruminal (VR) médio, verificado neste estudo de 91,16 L, correspondeu a 16,1 % do PV, o qual está dentro dos valores médios de 15 a 21% do PV, propostos por Owens e Goetsch (1988) como volume ruminal normal em bovinos. Highstreet et al. (2010), trabalhando com vacas leiteiras, não observaram diferenças no volume ruminal quando substituíram a ureia com ureia protegida com gordura, relatando valores de volume ruminal entre 45,2 e 48,6 L/dia. O tempo de retenção médio (Tabela 5) observado neste estudo de 11h foi próximo ao encontrado por Bürger et al. (2000) de 10,26h. A taxa de reciclagem também não foi influenciada ($P>0,05$) pela substituição da ureia por ULL.

O volume urinário de um bovino adulto varia de 5 a 10 L/dia (Gurtler et al., 1987). No presente experimento, todos os animais, apresentaram valores nesta faixa. O volume urinário médio observado neste ensaio de 8,2 L/dia (Tabela 6) foi superior ao volume reportado por Barbosa et al. (2006) para bovinos machos castrados da raça Nelore (4,67 L/dia) e inferior aos observados por Chizzotti et al. (2006), em novilhas com peso médio de 453 kg (17,47 L/dia). Porém, próximo ao observado por Rennó et al. (2008) em novilhos da raça Nelore (8,02 L/dia). Highstreet et al. (2010), trabalhando com

vacas leiteiras, não observaram diferenças em relação à produção de urina quando substituíram a ureia por uma ureia encapsulada na dieta.

Da mesma maneira, Santos et al. (2011) não observaram diferenças no volume urinário e concentração de alantoína quando vacas leiteiras foram suplementadas com Optigen®II em substituição parcial do farelo de soja.

A produção urinária média de alantoína foi de 184 mmol/dia (Tabela 6) e não houve efeito ($P < 0,05$) de tratamento. Apesar de ter verificado maior produção de alantoína. Resultado semelhante foi obtido por Galo et al. (2003) que ao substituir a ureia pelo Optigen® 1200 não encontrou efeito de tratamento.

Tabela 6 - Eficiência de síntese de proteína microbiana em função do nível de substituição da ureia pela ULL

Variáveis	Tratamentos				Regressão	EPM	P<
	0 ULL	33 ULL	66 ULL	100 ULL			
VU	8,49	7,49	8,35	8,52	$\hat{Y} = 8,21$	0,8	0,74
ALA	178,62	182,82	185,15	187,80	$\hat{Y} = 183,60$	11,4	0,95
AcU	10,04	10,06	11,50	9,62	$\hat{Y} = 10,30$	1,1	0,67
PT	188,66	192,87	196,64	197,42	$\hat{Y} = 193,90$	11,4	0,94
Pabs	169,28	174,47	179,17	179,81	$\hat{Y} = 175,69$	13,5	0,94
Nmic	123,07	126,84	130,26	130,72	$\hat{Y} = 127,72$	9,8	0,94
Efic	160,49	162,21	171,88	167,75	$\hat{Y} = 165,58$	12,0	0,90

VU = volume urinário (L/dia); ALA = alantoína (mmol/dia); AcU = ácido úrico (mmol/dia); PT = purinas totais (mmol/dia); Pabs = purinas absorvidas (mmol/dia); N mic = nitrogênio microbiano (g/dia); Efic = eficiência de síntese de proteína microbiana (g PB microbiana/kg de NDT consumido).

A produção urinária média de ácido úrico foi de 10,30 mmol/dia (Tabela 6) e não diferença entre os tratamentos. Valores maiores foram encontrados por Galo et al. (2003) que observaram valores entre 82 e 93 mmol/dia em vacas leiteiras alimentadas com ureia protegida, resultado do maior consumo de MS. Chen & Gomes (1992) consideram que a proporção de ácido úrico nos derivados de purinas (DP) varia de 15 a 20% e é muito constante no mesmo animal, mas varia entre animais. Entretanto, neste experimento essas proporções ficaram entre 4,87 e 5,84%.

A eficiência de síntese de proteína microbiana observada, neste experimento, foi de 165,6 g PBmic/kg de NDT consumido (Tabela 6), e não houve efeito da inclusão de ULL na dieta. Esse valor foi superior ao observado por Galo et al. (2003) de 115 g PBmic/kg de NDT consumido; ao proposto pelo NRC (2001) de 130 g PBmic/kg de NDT consumido; e ao proposto por Valadares Filho et al. (2006) para bovinos em condições tropicais 120 g PBmic/kg de NDT consumido. Assim, pode-se inferir que em

todos os tratamentos houve maximização da síntese microbiana e que nas condições deste experimento a ULL não apresentou vantagens como substituto da ureia.

A concentração de nitrogênio ureico no plasma (NUP) foi semelhante entre os tratamentos ($P>0,05$), sendo observados valores de 13,39; 12,8, 13,06 e 11,56 mg/dL para os tratamentos 0 ULL, 33 ULL, 66 ULL e 100 ULL, respectivamente. O valor médio estimado de 11,8 mg/dL foi próximo ao obtido por Oliveira et al. (2007), que, incluindo 0,6% de ureia, observaram valor médio de 11,3 mg/dL. Segundo Valadares et al. (1997), a concentração de NUP resultante de máxima eficiência microbiana varia de 13,5 a 15 mg/dL e, acima desses valores, estaria ocorrendo perda de proteína no processo de fermentação no rúmen.

Conclusões

A utilização da ureia de liberação lenta em substituição a ureia na dieta de bovinos de corte melhora a digestibilidade aparente ruminal da FDN. Os demais parâmetros estudados não são influenciados pela substituição da ureia pela ULL.

Referências

- A.O.A.C. (Association of Official Agricultural Chemists). **Official Methods of the Association of the Agricultural Chemists**. 15.ed. Washington, v.2. 1990.
- AZEVEDO, E.B.; OSPINA-PATIÑO, H.; SILVEIRA, A.L.F. et al. Suplementação nitrogenada com ureia comum ou encapsulada sobre parâmetros ruminais de novilhos alimentados com feno de baixa qualidade. **Ciência Rural**, v.40, p.622-627, 2010.
- BARBOSA, A.M.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO. S.C. et al. Efeito do período de coleta de urina, dos níveis de concentrado e de fontes protéicas sobre a excreção de creatinina, de ureia e de derivados de purina e a produção microbiana em bovinos Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.870-877, 2006.
- BÜRGER, P.J.; PEREIRA, J.C.; COELHO DA SILVA, J.F. et al. Taxas de passagem e cinética da degradação ruminal em bezerros holandeses alimentados com dietas contendo diferentes níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.225-235, 2000.
- CASTAÑEDA, R.D.; BRANCO, A.F.; CONEGLIAN, S.M. et al. Substituição de ureia por cloreto de amônio em dietas de bovinos: digestibilidade, síntese de proteína microbiana, parâmetros ruminais e sanguíneos, **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.31, p. 271-277, 2009.
- CHEN, X.B., MEJIA, A.T., KYLE, D.J. et al. Evaluation of the use of purine derivative: creatinine ratio in *spot* urine and plasma samples as an index of microbial protein supply in ruminants: studies in sheep. **Journal of Agriculture Science**, v.125, p.137-143. 1995.
- CHEN, X.B.; GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives- an overview of technical details. International feed research unit. Aberdeen: Rowett Research Institute, p. 21. 1992.

- CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; LEÃO, M.I. et al. Casca de algodão em substituição parcial à silagem de capim-elefante para novilhos. 1. Consumo, degradabilidade e digestibilidade total e parcial. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.2093-2102, 2006.
- COLUCCI, P.E.; MACLEOD, G.K.; GROVUM, W.L. et al. Digesta kinetics in sheep and cattle fed diets with different forage to concentrate ratios at high and low intakes. **Journal of Dairy Science**, v.73, p.2143-2156, 1990.
- CONRAD, H. R.; BAILE, C. A.; MAYER, J. Changing meal patterns and suppression of feed intake with increasing amounts of dietary nonprotein nitrogen in ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.60, p.1725-1733, 1977.
- FENNER, H. Methods for determining total volatile bases in rumen fluid by steam distillation. **Journal of Dairy Science**, v.48, p.249-251. 1965.
- FIRKINS, J.L., YU, Z., MORRISON, M. Ruminal nitrogen metabolism: Perspectives for integration of microbiology and nutrition for dairy. **Journal of Dairy Science**, v.90 p.1-16, 2007.
- FUJIHARA, T.; ORSKOV, E.R.; REEDS, P.J. et al. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agricultural Science**, v.109, p.7-12, 1987.
- GALINA, M.A.; PEREZ-GIL, F.; ORTIZ, R.M.A. et al. Effect of slow release urea supplementation on fattening of steers fed sugar cane tops (*Saccharum officinarum*) and maize (*Zea mays*): ruminal fermentation, feed intake and digestibility. **Livestock Production Science**, v.83, p.1-11, 2003.
- GALO, E.; EMANUELE, S.M.; SNIFFEN, C.J. et al. Effects of a polymer-coated urea product on nitrogen metabolism in lactating Holstein dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.2154-2162, 2003.
- GÜRTLER, H.; KETZ, H.A.; KOLB, E. et al. **Fisiologia veterinária**. 4.ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, p.612, 1987.
- HIGHSTREET, A.; ROBINSON, P.H.; ROBISON, J.J. GARRETT, G. Response of Holstein cows to replacing urea with with a slowly rumen released urea in a diet high in soluble crude protein. **Livestock Production Science**, v.129, p.179-185, 2010.
- HOOVER, W.H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal of Dairy Science**, v.69, p.2755-2766, 1986.
- HUNGATE, R.E. **The rumen and its Microbes**. New York: Academic Press, 1966. inc., version, 1999-2001.
- KONONOFF, P.J.; HEINRICH, A.J.; GABLER. M.T. The Effects of Nitrogen and Forage Source on Feed Efficiency and Structural Growth of Prepubertal Holstein Heifers, **The Professional Animal Scientist**, v.22, p.84-88, 2006.
- LEÃO, M.I.; VALADARES FILHO, S.C.; RENNÓ, L.N. et al. Consumos e digestibilidades totais e parciais de carboidratos totais, fibra em detergente neutro e carboidratos não-fibrosos em novilhos submetidos a três níveis de ingestão e duas metodologias de coleta de digestas abomasal e omasal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.670-678, 2005.
- MAENG, W.J.; BALDWIN, R.L. Dynamics of fermentation of purified diet and microbial growth in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.59, p.636-642, 1976.
- MYERS, W.D.; LUDDEN, P.A.; NAYIGHUGU, V. et al. Technical Note: a procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. **Journal of Animal Science**, v.82, p.179-183, 2004.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7 ed. Whashington, D.C. National Academic Press, 2001. 381p.

- OLIVEIRA, A.S.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.D. et al. Produção de Proteína Microbiana e Estimativas das Excreções de Derivados de Purinas e de Ureia em Vacas Lactantes Alimentadas com Rações Isoprotéicas Contendo Diferentes Níveis de Compostos Nitrogenados Não-Protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.1621-1629, 2001.
- OLIVEIRA, A. S.; CAMPOS, J. M. S.; VALADARES FILHO, S. C.; et al. Substituição do milho pela casca de café ou de soja em dietas para vacas leiteiras: comportamento ingestivo, concentração de nitrogênio uréico no plasma e no leite, balanço de compostos nitrogenados e produção de proteína microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.205-215, 2007.
- ØRSKOV, E.R. **Nutrición proteica de los rumiantes**. Zaragoza: Ed. Acribia. p.178. 1988.
- ØRSKOV, E.R. Supplement strategies for ruminants and management of feeding to maximize utilization of roughages. **Preventive Veterinary Medicine**, v.38, p.179-185, 1999.
- OWENS, F.N.; GOETSCH, A.L. Ruminal fermentation. In: CHURCH, D.C. (Ed.). **The ruminant animal digestive physiology and metabolism**. New Jersey: Prentice Hall, p.145-171. 1986.
- PAULA, A.A.G.; FERREIRA, R.N.; ORSINE, G.F. et al. Ureia polímero e ureia pecuária como fontes de nitrogênio solúvel no rúmen: parâmetros ruminal e plasmático. **Ciência Animal Brasileira**, v.10, p.1-8, 2009.
- PINOS-RODRÍGUEZ, J.M.; PEÑA, L.Y.; GONZÁLEZ-MUÑOZ, S.S. et al. Effects of a slow-release coated urea product on growth performance and ruminal fermentation in beef steers. **Italian Journal of Animal Science**, v.9, p.16-19, 2010.
- PUGA, D.C.; GALINA, H.M.; PEREZ-GIL, R.F. et al. Effect of a controlled release urea supplement on rumen fermentation in sheep fed a diet of sugar cane tops (*Saccharum officinarum*), corn stubble (*Zea mays*) and King grass (*Pennisetum purpureum*). **Small Ruminant Research**, v.39, p.269-276, 2001.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Níveis de ureia na ração de novilhos de quatro grupos genéticos: estimativa da produção de proteína microbiana por meio dos derivados de purinas na urina utilizando duas metodologias de coleta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.546-555, 2008.
- RIBEIRO, S.S.; VASCONCELOS, J.T.; MORAIS, M.G. et al. Effects of ruminal infusion of a slow-release polymer-coated urea or conventional urea on apparent nutrient digestibility, in situ degradability, and rumen parameters in cattle fed low-quality hay. **Animal Feed Science and Technology**, v.164, p.53-61, 2011.
- RUSSELL, J.B.; O'CONNOR, J.D.; FOX, D.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, p.425-441, 1992.
- SANTOS, J.F.; DIAS JÚNIOR, L.L.; BITENCOURT, N.M. et al. Resposta de vacas leiteiras à substituição parcial de farelo de soja por ureia encapsulada, **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, p.423-432, 2011.
- SOUZA, V.L.; ALMEIDA, R.; SILVA, D.F.F. et al. Substituição parcial de farelo de soja por ureia protegida na produção e composição do leite. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, p.1415-1422, 2010.
- SATTER, L.D.; ROFFLER, R.E. Nitrogen requirement and utilization in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.58, p.1219-37, 1975.
- SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. **British Journal of Nutrition**, v.32, p.199, 1974.

- SILVA, R.M.N.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Ureia para vacas em lactação. I. Consumo, digestibilidade, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.1639-1649, 2001.
- SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; Van SOEST, P.J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3562-3577, 1992.
- TAYLOR-EDWARDS, C. C.; HIBBARD, G. KITTTS, S. E. et al. Effects of slow-release urea on ruminal digesta characteristics and growth performance in beef steers. **Journal of Animal Science**, v.87, p.200-208, 2009.
- UDEN, P.; COLLUCCI, P.E.; VAN SOEST, P.J. Investigation on chromium, cerium and cobalt as markers in ingest. Rate passage studies. **Journal of Science Food and Agriculture**, v.31, p.625-632, 1980.
- VALADARES, R. F. D.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, N. M. et al. Níveis de proteína em dietas de bovinos. Concentrações de amônio ruminal e ureia plasmática e excreções de ureia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, p.1270-1278, 1997.
- VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, P.V.R.; MAGALHÃES, K.A. **Exigências nutricionais de zebuínos e tabelas de composição de alimentos BR-CORTE**. Viçosa, MG: UFV, DZO, 2006. 142p.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Symposium: Carbohydrates methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ithaca, New York: Cornell. p.476. 1994.
- VERBIC, J.; CHEN, X.B.; MACLEOD, N.A. et al. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal of Agricultural Science**, v.114, p.243-246, 1990.
- XIN, H.S.; SCHAEFER, D.M.; LIU, Q.P. et al. Effects of polyurethane coated urea supplement on *in vitro* ruminal fermentation, ammonia release dynamics and lactating performance of Holstein dairy cows fed a steam-flaked corn-based diet. **Asian and Australian Journal of Animal Science**, v.23, p.491-500, 2010.