

UTILIZAÇÃO DE NITROGÊNIO NÃO PROTÉICO NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS: METABOLISMO, DESEMPENHO PRODUTIVO E COMPOSIÇÃO DO LEITE

Adriana Augusto Aquino¹
José Esler de Freitas Júnior¹
Jefferson Rodrigues Gandra¹
Angélica Simone Cravo Pereira²
Francisco Palma Rennó²
Marcos Veiga dos Santos^{2*}

RESUMO

Objetiva-se nesta revisão abordar o metabolismo ruminal do nitrogênio e a utilização de nitrogênio não protéico (NNP) em dietas de vacas leiteiras e discutir seus efeitos sobre o consumo, a digestão, o desempenho produtivo e a composição das frações protéicas do leite. Existe grande variedade de compostos caracterizados como NNP, dentre os quais a uréia se destaca pelo baixo custo, disponibilidade e facilidade de uso, sendo muito utilizada na alimentação animal, especialmente em ruminantes. Diversos fatores influenciam a utilização do nitrogênio pelo ruminante, entre eles, a relação proteína:energia, a concentração de nitrogênio na dieta, a suplementação de enxofre e o período de adaptação da dieta. Embora a inclusão de fontes de nitrogênio não protéico na dieta de vacas leiteiras seja prática comum em sistemas de produção de leite, são necessários mais estudos visando maior otimização e eficiência do uso de nitrogênio dietético e redução de perdas para o ambiente.

Palavras-chave: vaca leiteira, uréia, produção de leite

USE OF NON-PROTEIN NITROGEN IN THE NUTRITION OF DAIRY COWS: METABOLISM, PRODUCTIVE PERFORMANCE AND MILK COMPOSITION

ABSTRACT

The objective of this review is to address the rumen metabolism of nitrogen, the use of non-protein nitrogen (NNP) in feed for dairy cows, and also to discuss its effects on consumption, digestion, productive performance and composition of milk protein fractions. There is a great variety of compounds characterized as NNP. Among these, urea is highlighted by the low cost, availability, ease of use, and it is widely used in animal feed, especially in ruminants. Several factors influence the use of nitrogen by ruminant, among them, the protein:energy ratio, the concentration of nitrogen in the diet, supplementation of sulfur and the period of adaptation of the diet. Although the inclusion of non-protein nitrogen sources in the diet of dairy cows is common practice in dairy production systems, more studies are needed in order to have greater efficiency and optimization of the use of dietary nitrogen and reduce the losses to the environment.

¹ Aluno do curso de pós-graduação do programa de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Av. Duque de Caxias Norte Nº 225 campus da USP – FMVZ – VNP Pirassununga-SP.

² Professor Doutor do Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Av. Duque de Caxias Norte Nº 225 campus da USP – FMVZ – VNP Pirassununga-SP 13635-900. *Autor correspondente: mveiga@usp.br

Key words: dairy cow, urea, milk production

EL USO DE NITRÓGENO NO PROTEICO EN LA ALIMENTACIÓN DE VACAS LECHERAS: METABOLISMO, RENDIMIENTO PRODUCTIVO Y COMPOSICIÓN DE LA LECHE

RESUMEN

El objetivo de esta revisión es abordar el metabolismo ruminal de nitrógeno y el uso de nitrógeno no proteico (NNP) en las raciones para vacas lecheras y discutir sus efectos sobre el consumo, la digestión, el rendimiento y la composición proteica de la leche. Existe una gran variedad de compuestos caracterizados como NNP, entre los cuales la urea es caracterizada por su bajo costo, disponibilidad y facilidad de uso y es ampliamente utilizada en la alimentación animal, especialmente en rumiantes. Varios factores influyen en el uso de nitrógeno por los rumiantes, entre ellos, la relación proteína: energía, la concentración de nitrógeno en la dieta, el suplemento de azufre y el período de adaptación a la dieta. Aunque la inclusión de fuentes de nitrógeno no proteico en la dieta de vacas lecheras es una práctica común en los sistemas para la producción de leche, se necesitan más estudios objetivando una mayor eficiencia y optimización de la utilización de nitrógeno de la dieta y reducir las pérdidas para el medio ambiente.

Palabras clave: leche de vaca, la urea, la producción de leche

INTRODUÇÃO

Diversos estudos foram conduzidos nos últimos 30 anos sobre o uso de fontes protéicas para vacas leiteiras, tendo como objetivo maximizar a eficiência de utilização da proteína dietética, melhorar o desempenho animal e reduzir perdas de nitrogênio para o ambiente (1)

O objetivo da nutrição protéica dos ruminantes é disponibilizar ao animal uma adequada quantidade de proteína degradada no rúmen (PDR), para que ocorra eficiência dos processos digestivos neste compartimento gástrico e, conseqüentemente, otimizar o desempenho animal com a mínima quantidade de proteína bruta dietética (2). Segundo este comitê, a maximização da eficiência do uso da proteína bruta dietética requer a seleção de alimentos protéicos e suplementos de nitrogênio não-protéico (NNP), que possam disponibilizar quantidades adequadas de PDR que satisfaçam, mas não excedam as exigências de nitrogênio necessárias para a máxima síntese de proteína bruta microbiana (PBM), e, em determinadas situações, utilizar adequadas fontes de proteína não degradada no rúmen (PNDR) para o fornecimento de aminoácidos (AAs) absorvíveis no intestino delgado em complementação a PDR.

O NNP não se apresenta como aminoácidos reunidos por vínculo formando peptídeos, mas consiste em fonte de nitrogênio, que juntamente com os substratos presentes no rúmen, principalmente energia, se transforma em proteína de alta qualidade. Existe grande variedade de compostos caracterizados como NNP, tais como, os compostos de purinas e pirimidinas, uréia, amiréia, biureto, ácido úrico, glicosídeos nitrogenados, alcalóides, sais de amônio e nitratos. Dentre estes, a uréia se destaca pelo baixo custo, disponibilidade e facilidade de uso, sendo muito utilizada na alimentação animal, especialmente em ruminantes (3).

Muitos estudos têm correlacionado a suplementação de proteína na dieta com o seu metabolismo (4, 5, 6), por meio das concentrações no plasma, sangue e leite, com o objetivo de maximizar a utilização de nitrogênio na ração de vacas leiteiras, explorando a utilização de fontes protéicas e seus benefícios sobre a produção de leite. Nesta revisão objetivam-se abordar o metabolismo do nitrogênio e a utilização de nitrogênio não protéico em rações de vacas leiteiras e discutir seus efeitos sobre o consumo, a digestão, o desempenho produtivo e a composição das frações protéicas do leite.

Composição química da uréia

A uréia é um composto orgânico sólido, solúvel em água e álcool, possui cor branca e é cristalizada por meio do sistema prismático. Quimicamente, é classificada como amida, daí ser considerada um composto nitrogenado não protéico (NNP), e possui em sua composição pequena quantidade de ferro e chumbo (0,003%), não considerados tóxicos, além dos demais elementos: nitrogênio (46,4%), biureto (0,55%), água (0,25%), amônio livre (0,008%) e cinzas (0,003%) (7).

Após a ingestão, a uréia é hidrolisada pela ação da urease sintetizada pelas bactérias do rúmen, produzindo amônia e dióxido de carbono. A amônia é o composto central da síntese de proteína no rúmen, sendo incorporada na proteína microbiana, principalmente de bactérias, mas também, de modo mais reduzido, de protozoários e fungos. Desta forma, a uréia não pode ser considerada uma proteína verdadeira e sim um composto nitrogenado não protéico (7).

A amônia é considerada um eletrólito fraco, de modo que, quando em solução, suas duas formas, ionizada (NH_4) e não ionizada (NH_3), estão em equilíbrio. As concentrações observadas de NH_4 e NH_3 na solução, dependem do pH e da temperatura (8). Baseado em princípios físico-químicos, deduziu-se que as membranas celulares de mamíferos são altamente permeáveis à forma não ionizada (NH_3) e que um rápido equilíbrio entre as formas NH_3 e NH_4 é estabelecido. A variação no pH por meio das membranas leva à formação de gradientes, concentrando a amônia dentro dos compartimentos com menor pH (8). De acordo com Ortolani e Antonelli (9), em pH de 7,0, somente 1% da amônia permanece na forma não ionizada.

A adaptação dos animais à uréia utilizada nas rações é uma prática de extrema importância, pois em situações de uso indiscriminado ou acidental, a uréia (seja em pó ou líquida) pode causar altas taxas de mortalidade (10). Comumente utiliza-se um máximo de 0,22g/kg de peso vivo de uréia, durante a primeira semana de adaptação, em rebanhos não adaptados. Rebanhos adaptados suportam níveis de uréia duas vezes maiores que o citado acima (11).

Assim, durante o metabolismo da uréia no rúmen, é preciso considerar suas diferentes transformações, como a hidrólise e o aproveitamento dos produtos finais do seu metabolismo, e seus efeitos sobre o estado metabólico do animal, pois condições adversas, como variações rápidas de pH e deficiência no fornecimento de energia, podem inviabilizar sua utilização, tornando-a perigosa do ponto de vista nutricional, em alguns casos. O período de adaptação representa um fator indispensável para o uso de uréia nas rações, permitindo ao animal adaptar o seu trato digestivo e flora microbiana à nova dieta e ter maior aproveitamento do nitrogênio fornecido.

Metabolismo do nitrogênio no rúmen

A interação entre a vaca leiteira, os microrganismos, a ração e os produtos finais da digestão torna complexo o estudo da ecologia e do metabolismo ruminal. No entanto, o

conhecimento sobre as interações (animal e microrganismos) é fundamental, pois permite a manipulação de estratégias dietéticas, a fim de melhorar a eficiência na utilização dos nutrientes (12). A seleção da população microbiana do rúmen ocorre sob o efeito do pH e do substrato e o crescimento de determinada espécie é dependente da combinação ideal desses dois fatores. Normalmente, os organismos selecionados, além de adaptados ao meio, apresentam alta taxa de divisão celular (13).

As bactérias são os principais microrganismos envolvidos com a degradação protéica. Essas bactérias são os microrganismos mais abundantes no ambiente ruminal (10^{10-11} /ml) e os que, em cerca de mais de 40% das espécies isoladas, apresentam atividade proteolítica (14).

No ambiente ruminal, as bactérias inicialmente ligam-se às proteínas solúveis e insolúveis em um processo de adsorção (14). Proteólises extracelulares originam oligopeptídeos que, em seguida, serão degradados a peptídeos menores e AAs livres. Posteriormente, observam-se cinco eventos intracelulares: 1) clivagem dos peptídeos em AAs livres; 2) utilização dos AAs livres para a síntese protéica; 3) catabolismo dos AAs livres à amônia e esqueletos de carbono (deaminação); 4) utilização do amônio para a re-síntese de AA; e 5) difusão do amônio para o meio extracelular (14).

Podem ser distinguidas no rúmen três populações de bactérias: aquelas inseridas no fluido ruminal, as que aderem as partículas do alimento e as morfológicamente distintas que se aderem à parede ruminal. Este último grupo age sobre as células epiteliais mortas, produzindo proteína microbiana e amônia e contribuem com mais de 10% da atividade das proteases e da urease no fluido ruminal (15). Algumas espécies de bactérias ruminais, tais como, *Bacteroides succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminococcus albus*, *Bacteroides amylophilus*, *Methanobacterium ruminatum* e *Eubacterium ruminatum*, dependem do amônio para o seu crescimento, mesmo quando há presença de proteína verdadeira (16).

Os protozoários também apresentam participação ativa na degradação ruminal da proteína. Apesar de serem menos numerosos no ambiente ruminal (10^{5-6} /ml) devido ao maior tamanho, representam porção significativa da massa microbiana total do rúmen (geralmente menos de 10%, mas algumas vezes atinge 50%) (17). Contudo, existem muitas diferenças entre o metabolismo protéico das bactérias e dos protozoários, com diferença fundamental no ambiente onde vai ocorrer o processo de degradação protéica. Ao invés de, inicialmente se ligarem às partículas (adsorção) formando complexos, como as bactérias, os protozoários ingerem totalmente materiais particulados (bactérias, fungos e pequenas partículas de alimentos), sendo as bactérias sua principal fonte de proteína ingerida (18).

Genericamente, os protozoários podem ser classificados em dois grandes grupos: os ciliados, ou *Holotrichia*, compreendendo os gêneros *Isotrichia* e *Dasytrichia*, e os entodiniomorfos (*Entodinia*). Normalmente, os protozoários são selecionados pelo pH resultante da dieta, presentes em menor quantidade quando a dieta é composta por grande proporção de grãos, provavelmente porque esta gera um ambiente ruminal mais ácido. Os protozoários, além de realizarem a predação da população bacteriana, utilizando os aminoácidos das bactérias para a síntese de suas proteínas, competem por substratos, o que altera o fluxo de nitrogênio no organismo do ruminante (19). Em situações experimentais, a defaunação resulta em maior eficiência na síntese e no fluxo de proteína microbiana (20), especialmente porque há redução na degradação da proteína, deixando grande parte da proteína dietética livre para sofrer digestão no intestino (19). Assim, conhecer a população microbiana e as interações entre elas é importante para entender o metabolismo do nitrogênio no rúmen.

A estrutura da proteína afeta o seu metabolismo no rúmen, pois determina a suscetibilidade às proteases microbianas e por conseqüência, a sua degradabilidade (21). Por sua vez, a degradabilidade da proteína dietética, assim como a absorção dos peptídeos e da

amônia resultantes são fatores determinantes na eficiência de utilização do nitrogênio, e, por conseguinte, na quantidade de proteína microbiana e proteína não degradada no rúmen que estarão disponíveis para o animal (12).

A proteína da dieta é dividida em dois *pools* principais: o de proteína degradada no rúmen (PDR) e o de proteína não degradada no rúmen (PNDR). A PDR é composta de NNP e proteína verdadeira. A proteína verdadeira é degradada em peptídeos e AAs, que são eventualmente deaminados em nitrogênio e NH_3 e incorporados em proteína microbiana (PM) ou degradados pelos microrganismos ruminais, produzindo ácidos graxos voláteis (AGV) de cadeia ramificada. O NNP é composto de N, presente em DNA, RNA, NH_3 , NH_4^+ , AAs e pequenos peptídeos. Tanto os AAs, quanto NNP podem ser convertidos em NH_4^+ pelos microrganismos ruminais. (21, 22).

Diversos fatores influenciam a utilização do nitrogênio pelo ruminante, entre eles, a relação proteína:energia, a concentração de nitrogênio na dieta, suplementação de enxofre e o período de adaptação da dieta. O enxofre (S) deve ser adicionado à uréia para que as bactérias do rúmen consigam sintetizar aminoácidos sulfurados (cistina, cisteína e metionina), sendo recomendada uma relação N:S entre 10:1 e 15:1. São indicados como fonte de enxofre o sulfato de cálcio (17% de S) e o sulfato de amônio (24% de S) (7).

Quando a dieta é limitante em energia fermentável, com proteína bruta ou proteína altamente degradável em excesso, poderá ocorrer produção excessiva de NH_4^+ . Contudo, nem todo NH_4^+ produzido poderá ser convertido em PM. A NH_3 em excesso é absorvida pela parede do rúmen e transportada para o fígado, onde ocorre a conversão em uréia, a qual é lançada no sangue. A uréia no sangue poderá seguir diferentes destinos: retornar ao rúmen via saliva, ou pela própria parede do rúmen, ou poderá ainda ser excretada na urina por meio de filtração renal. Quando a uréia retorna ao rúmen, é convertida novamente em NH_4^+ e pode-se utilizá-la como fonte de nitrogênio para bactérias (21, 22).

As variações nas fontes de proteína e no conteúdo de energia dos alimentos têm grande influência na síntese de proteína microbiana e na fração da PNDR que chega ao intestino. Estes fatores também alteram o perfil de aminoácidos disponíveis após a digestão no duodeno, influenciando a produção de leite e a fertilidade dos ruminantes (23).

De acordo com Helmer et al. (24) há uma relação positiva entre a conversão de fontes de nitrogênio em amônio e a magnitude da digestão da celulose e do amido. Estes autores ressaltaram a importância do amônio na digestão de carboidratos estruturais e não estruturais no rúmen. A utilização sincronizada de proteína e carboidratos da ração é necessária para um ótimo crescimento microbiano e síntese protéica, beneficiando a digestibilidade ruminal (25), a eficiência na utilização de proteína e energia, assim como a produção de leite (26).

Ao avaliar três teores dietéticos de proteína bruta (15,1%; 16,7%; 18,4%) e de fibra em detergente neutro (36%, 32%, 28%), com o objetivo de identificar as concentrações ótimas de proteína bruta e energia na ração de vacas, Broderick (5) observou que, embora concentrações maiores de proteína tenham promovido aumento do consumo de matéria seca, da produção de leite, de proteína e de gordura, geraram também concentrações maiores de NNP, NUL (nitrogênio uréico lácteo) e NU (nitrogênio urinário), reduzindo a eficiência da utilização do nitrogênio. O aumento da concentração energética pela diminuição do conteúdo de FDN reduziu o ganho de peso, a produção de leite e dos componentes do leite (exceto a gordura), bem como a excreção do nitrogênio urinário. Por outro lado, a secreção de NUL foi aumentada com concentrações mais elevadas de energia na ração. Assim, concluiu-se que, independentemente da concentração energética, 16,7% de PB na ração é quantidade suficiente para prover a produção e, que concentrações protéicas inferiores à exigência levam a efetiva redução na excreção do nitrogênio para o ambiente.

O perfil de aminoácidos da proteína também é importante na nutrição de vacas leiteiras, especialmente para animais de alta produção e em início de lactação. Bach et al.

(27), ao estudarem os efeitos da concentração de proteína bruta (18% e 15%) e o perfil de aminoácidos da proteína (alta ou baixa qualidade) em dietas isoenergéticas (1,75 Mcal EM/kg), sobre a produção de leite de vacas em início de lactação, verificaram que os animais foram menos susceptíveis à variação na concentração de proteína, do que na mudança do perfil de aminoácidos da dieta, principalmente lisina e metionina.

Portanto, deve-se estudar o metabolismo da proteína no rúmen quando se inclui fontes de NNP nas rações de vacas leiteiras, o que permite, de certa forma, estimar as condições ruminais adequadas, como nível de substrato (fonte de energia) e pH ruminal, para a otimização da síntese de proteína microbiana e, principalmente, para a manutenção da população microbiana ruminal.

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

A alimentação é o fator isolado responsável pelo maior percentual do custo operacional total de produção de uma propriedade leiteira (28). Dessa forma, é incessante a busca por estratégias de alimentação que diminuam os gastos sem interferir negativamente na produção. A utilização de fontes de NNP, dentre as quais a forma mais comum é a uréia, é alternativa viável para que este objetivo seja atingido (29).

O ruminante pode utilizar duas fontes de uréia: exógena e endógena. A uréia exógena é um composto quaternário constituído por nitrogênio, oxigênio, carbono e hidrogênio, $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$, (30), que possui equivalente protéico de 281%, é produzida sinteticamente por meio da combinação de gás carbônico e amônia e em condições de elevada temperatura (195°C) e pressão (240 kg/cm²). No entanto, a uréia endógena é sintetizada pelo fígado a partir do ciclo da uréia (31).

A principal medida a ser tomada quando se inicia o uso da uréia na alimentação de ruminantes é a adaptação dos animais, já que o consumo de grandes quantidades de uréia, durante um período curto, pode ser fatal para animais não adaptados. Entretanto, animais adaptados à uréia têm redução na taxa de hidrólise da uréia, seja por inibição (NH_3) ou ainda por mecanismos das próprias espécies de microrganismos (32). A adaptação de ruminantes as dietas suplementadas com uréia faz-se necessária, promovendo, portanto, uma preparação fisiológica do sistema microrganismos-rúmen, evitando quadros de intoxicação e morte dos ruminantes.

Diversos trabalhos vêm sendo desenvolvidos a fim de estudar o efeito do uso de uréia na ração de vacas em lactação sobre o desempenho produtivo. Imaizumi et al. (33) verificaram que a uréia (1,3% da MS da dieta) associada ao farelo de soja foi tão eficiente quanto o farelo de soja no suprimento de aminoácidos à glândula mamária de vacas em final de lactação, produzindo entre 12 e 13 kg de leite/dia. Carmo et al. (34) concluíram que a substituição parcial do farelo de soja por uréia no teor de 2,0% da matéria seca da dieta é alternativa viável para vacas leiteiras no terço final de lactação, com produção média de 20 kg/dia. As dietas com uréia não afetaram a produção de leite, a produção de leite corrigido para gordura, teor e a produção de proteína e lactose do leite, produção de sólidos totais, concentração de nitrogênio uréico e glicose no plasma.

Santos et al. (1), em revisão de literatura, analisaram 23 comparações a partir de 12 trabalhos em que a uréia substituiu de forma parcial ou total, diversos suplementos protéicos em rações de vacas leiteiras com produção de 30 a 40 kg/leite por dia. A inclusão da uréia na matéria seca da ração variou entre 0,4 a 1,8%. O consumo de MS não foi afetado em 17 comparações, diminuiu em quatro e aumentou em dois, enquanto a produção de leite permaneceu inalterada em 20 e diminuiu em três comparações com a inclusão da uréia na ração. Entretanto, Silva et al. (35) e Oliveira et al. (36) verificaram diminuição linear no

consumo de alimentos e na produção de leite de vacas da raça Girolando e Holandesa, respectivamente, ao utilizarem percentuais crescentes de uréia na ração (0; 0,7; 1,4 e 2,1%).

Em relação à digestão, Silva et al. (35) ao avaliarem a adição de quantidades crescentes de uréia (0; 0,7; 1,4 e 2,1%) para vacas no início da lactação, com produção de 20 kg de leite/dia, não observaram efeito da adição de uréia sobre a digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, fibra em detergente neutro (FDN), proteína bruta e carboidratos totais. Posteriormente, Ramalho et al. (37) analisaram a substituição do farelo de soja pela mistura de raspa de mandioca e uréia sobre o desempenho, consumo e digestibilidade dos nutrientes em dietas à base de palma forrageira. Estes autores concluíram que a inclusão de raspa de mandioca e uréia em até 2,0 % da MS apresentou efeito positivo sobre a digestibilidade aparente de todos os nutrientes.

De forma semelhante, Oliveira et al. (36) avaliaram o efeito de quatro percentuais de uréia (0; 0,7; 1,4; e 2,1%) na ração de vacas em lactação e observaram que a digestibilidade aparente total dos nutrientes não foi influenciada pela quantidade de NNP na ração. Portanto, são variados os resultados encontrados na literatura avaliando diferentes teores de uréia na dieta de vacas leiteiras. Ressalta-se que parte dessa variabilidade pode ser atribuída à composição das rações, tipo de volumoso da dieta basal, níveis de produção, estágio de lactação e quantidades de uréia empregada nos estudos.

É imprescindível a busca de condições que reduzam o custo da alimentação em rebanhos leiteiros. Embora seja utilizado como fonte de proteína, o NNP pode ser eficiente em substituição às fontes de proteína de custo mais elevado, como o farelo de soja. Assim, é preciso enfatizar que todo o metabolismo animal deve ser avaliado durante sua utilização, para que não ocorra redução do desempenho produtivo e reprodutivo.

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

A suplementação com PNDR pode ser uma estratégia utilizada com o objetivo de aumentar a quantidade de proteína que escapa da fermentação ruminal e promover maior fornecimento de aminoácidos de interesse para serem absorvidos no intestino delgado. Neste caso, o fornecimento de maiores quantidades de PNDR seria justificado pelo fato das vacas em lactação necessitarem de quantidades de aminoácidos e peptídeos superiores àquelas fornecidas pelo suprimento de proteína bacteriana (38).

No entanto, maiores percentagens de PNDR fornecidas para aumentar a quantidade de proteína total e a porção que alcançam diretamente os intestinos nem sempre aumentam a produção de leite (3). Esta associação negativa entre ingestão de PB e produção pode ser explicada por meio do gasto energético, associado à transformação do excesso de amônia em uréia pelo fígado, contribuindo para menor disponibilidade de energia para a produção de leite. Estima-se que a conversão de amônia em uréia no fígado tenha custo para o animal de 12 kcal/g de excesso de nitrogênio excretado (17).

O teor de PB da dieta e a forma como é fornecida podem alterar sensivelmente a concentração de amônia ruminal e, conseqüentemente, o teor de nitrogênio, na forma de uréia no sangue e no leite. Isto ocorre porque a uréia do soro e do leite derivam da amônia absorvida pela parede ruminal (convertida em uréia no fígado) ou são, em menor grau, provenientes do metabolismo da proteína absorvida pelos intestinos. A uréia pode também ser produzida quando a proteína do tecido corporal ou aminoácidos absorvidos pelos intestinos são catabolizados para a gliconeogênese.

Nitrogênio uréico do leite (NUL) e nutrição protéica

Atualmente, há grande interesse no uso da concentração de NUL como parâmetro para avaliação nutricional do rebanho, especialmente quanto à nutrição protéica. Isto porque, o NUL correlaciona-se diretamente com os teores de uréia presente no soro (4). No entanto, para usar os valores de NUL com segurança, é necessário o conhecimento dos fatores nutricionais e não nutricionais que influem sua concentração.

Quanto à nutrição, diversos fatores podem influir no aumento de NUP (nitrogênio uréico no soro) e por consequência no NUL: aumento da ingestão de proteína; aumento da proporção de PDR, pois ambos fatores resultariam em maior proporção de proteína dietética sendo convertida em amônia; diminuição na ingestão de energia disponível para síntese de proteína microbiana, aumentando a passagem de amônia pela parede ruminal; aumento do pH ruminal elevando a NH_3 , que atravessa a parede ruminal com maior velocidade que NH_3 e aumento do catabolismo e/ou falência renal (39).

Os teores de proteína da dieta e os conteúdos de PDR e FDN estão positivamente correlacionados com a concentração de NUL (6). Broderick (5) ao utilizar três concentrações de PB e FDN na dieta, observou efeito linear positivo sobre a concentração de NUL e a excreção de N urinário, em função do aumento dos teores de PB, com diminuição da eficiência de utilização de nitrogênio. Já, a diminuição do teor de FDN, levou ao aumento nas porcentagens de proteína total e de proteína verdadeira do leite, com diminuição dos valores de NUL. A concentração de proteína na dieta é um dos fatores que mais afetam o NUL (40) e pode ser utilizada para avaliação do balanço de PDR, permitindo mensurar as perdas de nitrogênio na fermentação ruminal. Todavia, o NUL tem a limitação de não permitir a avaliação da utilização da proteína absorvida (41).

Os níveis de NUL recomendados pela literatura (média de rebanho) se encontram entre 10 a 16 mg/dL. Níveis abaixo de 10 e acima de 16 mg/dL, podem refletir um inadequado manejo nutricional. Os valores de NUL representam, em média, 85% dos valores de nitrogênio ureico no soro (NUS), variando de 83 a 98%. Dividindo os valores de NUL por 0,85, obtém-se uma estimativa de NUS (42).

Por outro lado, a energia da dieta e a concentração de carboidratos não estruturais relacionam-se negativamente à concentração de NUL (6). Segundo o NRC (39), as dietas com quantidade inadequada de energia podem ocasionar excesso de amônia ruminal, desencadeando aumento da concentração de N uréico plasmático, associado à redução na concentração de proteína no leite.

Além disso, o excesso de PB ou desbalanço das frações degradáveis e não degradáveis no rúmen podem elevar o NUL e indicar suprimento exagerado de N para os microrganismos ruminais, tecidos ou ambos. Segundo Baker et al. (43), concentrações elevadas de uréia no fluido ruminal de vacas leiteiras reduzem a eficiência metabólica de produção de leite, com impactos negativos na saúde e reprodução.

Faust e Kilmer (44) não verificaram nenhuma associação importante entre NUL e concentrações lácteas de gordura, lactose, proteína, sólidos isentos de gordura e sólidos totais. Estes resultados são divergentes daqueles citados por Hojman et al. (6), que relataram uma associação positiva do NUL com porcentagem de gordura e associação negativa com a concentração de proteína total.

De acordo com Hojman et al. (45), dentre os fatores não nutricionais que alteram a concentração de NUL pode-se citar: produção de leite, estação do ano e número de lactações. Os fatores produção de leite, estações da primavera e início do verão e vacas multíparas apresentam associação positiva com as concentrações de NUL, enquanto o inverno e vacas jovens correlacionam-se negativamente. O peso vivo e o número de lactações também tem sido estudadas e consideradas como variáveis que influenciam o NUL. Jonker et al. (46)

estudaram os efeitos da produção de leite, percentagem de gordura no leite, peso vivo do animal e ordem de partos sobre as concentrações de NUL em vacas leiteiras. Os autores observaram que a concentração lactacional média de NUL foi mais sensível ao nível de alimentação, relativo às exigências e à produção de leite, e menos sensível ao peso corporal e número de lactações.

Dessa forma, o monitoramento da excreção de nitrogênio, seja no leite ou no sangue, permite uma avaliação mais completa do metabolismo protéico durante a utilização da uréia, representando uma estimativa da eficiência de utilização de nitrogênio.

Composição da proteína do leite e uso da uréia como fonte de proteína degradável no rúmen

O leite apresenta, além das proteínas e peptídeos, uma fração de compostos nitrogenados não-protéicos (NNP), que pode perfazer aproximadamente 5% do total de nitrogênio do leite, de acordo com Farrell et al. (47). Estes compostos são principalmente originários do sangue, incluindo substâncias como a uréia, a creatina e a creatinina. De acordo com DePeters e Cant (48), a maior porção do NNP é nitrogênio na forma de uréia (48%), o qual entra livremente na glândula mamária, por difusão, para equilibrar sua concentração com a do plasma sanguíneo.

Sob o ponto de vista nutricional, é importante destacar que fontes de nitrogênio da dieta podem alterar a composição da proteína do leite e tem sido prática comum o uso de fontes de proteína de baixa degradabilidade ruminal, com o objetivo de elevar as concentrações de proteína láctea. Essa elevação poderia ser fisiologicamente explicada pelo fato de que o escape da fermentação ruminal (pela composição de aminoácidos da fonte de proteína) levaria ao aumento da concentração de proteína para ser absorvida no duodeno (49).

Por outro lado, alguns estudos avaliaram o uso de nitrogênio não protéico e de fontes de proteína na ração com diferentes taxas de degradabilidade ruminal sobre a composição química do leite. Broderick et al. (50), ao compararem o uso de uréia e proteína verdadeira (PV) como suplemento para vacas lactantes alimentadas com dietas à base de alfafa, silagem de milho e grão de milho observaram que as concentrações de amônia ruminal e nitrogênio uréico do leite foram mais baixas, de acordo com a diminuição da degradabilidade das dietas.

Alguns estudos avaliaram o uso de nitrogênio não protéico e fontes de proteína de diferentes degradabilidades na composição do leite, incluindo a concentração de proteína láctea. Porém, poucos descreveram o uso dessas fontes e seu impacto sobre a composição da proteína do leite. Baker et al. (43) estudaram os efeitos da concentração, degradabilidade e qualidade da proteína da dieta sobre a concentração de proteína do leite. Os resultados demonstraram que a concentração de PV do leite foi influenciada pelo suprimento de PDR e as dietas deficientes em PDR apresentaram menor concentração de PV no leite. Roseler et al. (51) estudaram o efeito de dietas com diferentes degradabilidades sobre as concentrações de NNP e NUL do leite de vaca e verificaram que a ingestão de dietas ricas em PNDR elevou os teores de nitrogênio uréico no plasma e no leite. Além disso, os autores concluíram que a produção de proteína verdadeira foi positivamente correlacionada à produção de leite, à ingestão de proteína não degradável e à ingestão de energia líquida.

Oliveira et al. (36), avaliando o consumo, digestibilidade aparente, produção e composição do leite de vacas alimentadas com quatro diferentes quantidades de uréia, concluíram que a adição de teores crescentes de NNP em substituição à PV reduziu o consumo de alimentos, sendo que o teor e produção de proteína diminuíram linearmente, com o aumento da uréia na dieta. De forma semelhante, DePeters e Palmquist (52) utilizaram farinha de peixe como fonte de proteína não degradável (rica em lisina e metionina) para

vacas em lactação e obtiveram aumento na concentração da proteína verdadeira do leite, incluindo elevação na caseína.

Winsryg et al. (53) utilizaram a somatotropina na dieta de vacas em lactação com o propósito de verificar o efeito da degradabilidade de diversas fontes de proteína na produção e composição de leite. Os animais do grupo controle receberam dietas a base de farelo de soja, enquanto o grupo tratado foi alimentado com glúten de milho e farinha de carne e ossos, como fonte de proteína não degradável, constituindo 33% de PNDR na proteína total. Os pesquisadores concluíram que o aumento da ingestão de PNDR elevou a concentração de proteína total e a porcentagem de caseína do leite (3,14% x 2,86% de proteína total e 62,11% x 58,24% de caseína) para os grupos controle e tratado, respectivamente.

Por outro lado, Bateman et al. (54), avaliando fontes protéicas ricas em PNDR, comparadas com farelo de soja e uréia, em associação com aminoácidos protegidos em dietas baseadas em feno de alfafa, concluíram que a fonte da proteína não alterou a produção e o teor de caseína de leite. Carmo et al. (34) destacaram que a suplementação de teores elevados de NNP (2% de uréia) na MS da dieta de vacas em final de lactação, em substituição parcial ao farelo de soja, pode ser realizada sem comprometimento do desempenho animal, uma vez que não foram observadas alterações na produção e no teor de PB do leite.

Em uma série de experimentos realizados na França, foram estudados os fatores que contribuem para a variação na proporção de caseína, como parte da proteína verdadeira do leite de vacas. Além da variante genética e da concentração de células somáticas foram estudados fatores dietéticos, como quantidade e tipo da fonte de nitrogênio. Concluiu-se que a suplementação com proteínas com melhor balanço de aminoácidos (farelo de soja x glúten de milho e farinha de peixe x farelo de soja) melhorou a relação caseína:proteína total. Por outro lado, a suplementação ruminal de lisina e metionina aumentou as concentrações de proteína do leite, mas não elevou as concentrações de caseína (55).

Trabalhos de pesquisa correlacionando fonte de proteína e a composição protéica do leite também foram desenvolvidos em caprinos. Neste sentido, Sampelayo et al. (56) descreveram que a proteína rapidamente degradável no rúmen constitui a fração mais associada à produção de proteína do leite e, em especial, às suas frações de caseína (alfa e beta), independentemente da composição de aminoácidos da proteína dietética. Em outro estudo, Sampelayo et al. (57) avaliando a influência de quatro diferentes fontes de proteína (grãos, caroço de algodão, glúten de milho e farelo de soja), sobre a produção, concentração e composição da proteína láctea, observaram que o leite das cabras recebendo dietas a base de glúten de milho apresentou as maiores concentrações de proteína e de caseína, com a fração beta presente em maior quantidade.

A raça e o nível de produção dos animais são as principais características influenciando o sucesso da utilização de NNP em rações de vacas leiteiras. Isso ocorre porque existem diferentes características, inerentes aos sistemas de produção, que limitam a resposta produtiva ao uso de NNP. Vacas leiteiras de alta produção possuem diferentes exigências de proteína metabolizável, que podem ser atendidas em parte pelo aumento do fornecimento de proteína não degradada no rúmen, quando a síntese de proteína microbiana é otimizada (58). Carmo (34) avaliou a inclusão de 2% de uréia em substituição ao farelo de soja para vacas leiteiras da raça Holandesa com produção média de 20 kg leite/dia. Os autores concluíram que para estes animais em final de lactação, a utilização de NNP (2% de uréia), em substituição parcial do farelo de soja, pode ser efetuada sem prejuízo sobre o desempenho produtivo e sem alterações da composição do leite. Aquino et al. (59) utilizaram níveis de 0; 0,75 e 1,50% de uréia na ração de vacas leiteiras no terço médio de lactação com média de 20kg/vaca/dia e também não observaram efeito do NNP sobre a produção de leite.

Tabela 1. Consumo de matéria seca (CMS), coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS), da matéria orgânica (CDMO) e da fibra em detergente neutro (CDFDN) de vacas leiteiras suplementadas com uréia.

Fonte ³	Uréia (%MS)	Delineamento Experimental	V + C ¹	CMS ² (KG/DIA)	CDMS ² (%)	CDMO ² (%)	CDFDN ² (%)
(59)	0,0	Quadrado	CA	16,13	-	-	-
	0,75	Latino	FS	16,74	-	-	-
	1,5	3x3	MF+MM	16,25	-	-	-
(60)	0,0	Quadrado	SS+PF	19,42	70,61*	72,04	52,48
	0,8	Latino	MF+FS	18,57	68,53*	70,17	48,81
	1,54	4x4		19,02	67,88*	68,98	51,00
	2,4			17,25	67,09*	68,61	50,32
(36)	0,0	Quadrado	SM	16,66*	70,17	71,55	64,74
	0,7	Latino	MF	16,54*	70,21	71,71	69,02
	1,4	4x4	FS+	15,77*	68,54	69,98	67,31
	2,1		MM	14,41*	68,89	69,99	67,96
(37)	0,0	Quadrado	SS+PF	17,26*	75,86*	77,66*	68,19*
	0,99	Latino	MF	18,81*	81,79*	83,14*	73,36*
	1,93	4x4	RM+	16,71*	80,21*	81,95*	73,24*
	2,92		MM	15,58*	78,3*	80,34*	71,61*
(35)	0,0	Inteiramente	SM	16,04	74,72*	76,01	72,74
	0,7	Casualizado	MF	16,49	74,22*	75,77	69,36
	1,4		FS+	11,64	85,23*	86,54	80,54
	2,1		MM	11,93	78,38*	79,95	75,65
(61)	0,0	Inteiramente	SM	16,04	-	-	-
	0,7	Casualizado	MF	16,49	-	-	-
	1,4		FS+	11,64	-	-	-
(62)	1,5	Quadrado	SM	18,96 A	68,19 B	69,61 B	50,87 B
	1,5	Latino	FM	19,38 A	61,81 B	63,36 B	44,97 B
	1,5	4x4	FT	19,56 A	59,85 B	61,04 B	43,68 B
	5,0		FA+MM	18,57 A	66,45 A	67,82 A	47,43 A
(63)	0,0	Quadrado	SM	23,70 A	-	79,70	-
	0,5	Latino	FS+PC	24,30 B	-	77,50	-
	1,5	3x3	GM	24,10 B	-	79,10	-
(34)	0,0	Blocos	SCE	14,83 A	-	-	-
	0,0	Ao acaso	FS+A	15,98 A	-	-	-
	2,0		RM+PC	15,22 A	-	-	-
(64)	0,5	Inteiramente	SA+SM	21,30 A	-	-	-
	0,9	Casualizado	MG+ FS	21,40 A	-	-	-
(65)	0,0	Inteiramente	SM	23,30 A	-	-	-
	0,0	Casualizado	FS+CA	22,90 A	-	-	-
	0,0		MM	23,10 A	-	-	-
	0,0			23,40 A	-	-	-
	0,37			24,01 A	-	-	-
(66)	0,5	Quadrado	SA+SM	25,10 A	66,40	65,20	50,30
	0,33	Latino		25,70 A	69,80	64,90	48,50
	0,17	4x4		25,70 A	71,20	65,80	49,30
	0,0			25,40 B	72,10	65,00	49,60

¹V=volumoso; C=concentrado; CA=cana-de-açúcar; SCE=silagem de capim elefante; SS+PF=Silagem de sorgo+palma forrageira; SM=silagem de milho; SA= silagem de alfafa; FS=farelo de soja; RM=raspa de mandioca; PC=polpa citrica; FT=farelo de trigo; FA=farelo de algodão; MG=milho grão; MF=milho fubá; GM=glúten de milho; A=amiréia; CA=caroço de algodão.

²Analisados por meio de regressão (* = significativo a 5 ou 10%) e/ou teste de média (letra = significativo a 5%).

³Equações de regressão: (61) para CDMS : $Y = 71,7718 - 0,6130 * \text{NNP}$; (36) para CMS : $Y = 17,8471 - 0,3905 * \text{NNP}$; (37) para CMS $Y = 17,36 - 0,015 * \text{NS}$, para CDMS $Y = 76,7211 + 0,2577 * \text{NS} - 0,0025 * \text{NS}^2$, para CDMO $Y = 69,2269 + 0,2921 * \text{NS} - 0,0028 * \text{NS}^2$ e para CDFDN $Y = 78,4495 + 0,2403 * \text{NS} - 0,0023 * \text{NS}^2$; e (5) para CMS $Y = 18,2825 - 0,831678 * \text{NNP}$.

Tabela 2. Produção de leite (PL), produção de leite corrigida para gordura (PLC), teores e produção de gordura (G, % e kg/dia), proteína (PB, % e kg/dia), lactose (LA, % e kg/dia) de vacas leiteiras suplementadas com uréia.

Fonte	Uréia (%MS)	Delineamento Experimental	V+C ¹	PL (KG/DIA)	PLC (KG/DIA)	G (%)	G (G/DIA)	PB (%)	PB (G/DIA)	LA (%)	LA (G/DIA)
(59)	0,0	Quadrado	CA	23,38	21,72	3,12	751,0	3,30	743,5	4,63	1071,3
	0,75	Latino	FS	22,56	20,54	2,97	664,0	3,08	689,2	4,66	1061,8
	1,5	3x3	MF	22,36	20,86	3,17	691,0	3,18	695,7	4,64	1101,3
(60)	0,0	Quadrado	SS+PF	19,36*	18,81*	3,41	660,2	3,49	675,6	-	-
	0,8	Latino	MF	18,94*	18,57*	3,40	643,9	3,36	636,3	-	-
	1,54	4x4	FS	17,87*	18,15*	3,65	652,2	3,22	575,7	-	-
	2,4			17,82*	17,50*	3,43	611,2	3,37	600,5	-	-
(36)	0,0	Quadrado	SM	20,11*	23,12*	4,43	888,3*	3,43*	687,8*	-	-
	0,7	Latino	MF	19,31*	21,95*	4,36	837,5*	3,42*	654,2*	-	-
	1,4	4x4	FS	18,57*	21,36*	4,45	820,7*	3,42*	544,2*	-	-
	2,1			17,50*	19,97*	4,39	763,7*	3,23*	564,3*	-	-
(37)	0,0	Quadrado	SS+PF	19,59*	15,76*	3,68*	608,0*	-	-	-	-
	0,99	Latino	MF	15,47*	14,84*	3,73*	577,0*	-	-	-	-
	1,93	4x4	RM	14,84*	14,59*	3,87*	576,7*	-	-	-	-
	2,92			13,55*	13,27*	3,86*	523,2*	-	-	-	-
(35)	0,0	Inteiramente	SM	17,79	21,18*	4,65*	809,9*	3,22	559,7	-	-
	0,7	Casualizado	MF	21,36	24,92*	4,50*	933,2*	3,55	731,5	-	-
	1,4		FS	18,14	20,63*	4,29*	789,3*	3,07	553,1	-	-
	2,1			17,72	18,83*	4,30*	701,9*	2,69	486,6	-	-
(61)	0,0	Inteiramente	SM	-	21,18	-	-	-	-	-	-
	0,7	Casualizado	MF	-	24,92	-	-	-	-	-	-
	1,4		FS	-	20,63	-	-	-	-	-	-
	2,1			-	18,83	-	-	-	-	-	-
(60)	0,0	Quadrado	SM	37,30 a	34,60	3,49	1310,0	3,21	1200,0	5,20	1940,0 ^a
	0,5	Latino	FS+PC	36,90 b	35,40	3,72	1380,0	3,24	1900,0	5,22	1930,0 ^b
	1,5	3x3	GM	36,30 a	35,00	3,73	1370,0	3,23	1170,0	5,17	1890,0 ^{ab}
(34)	0,0	Blocos	SCE	19,13	18,31	3,45 ^b	620,0 ^b	3,10	590,0	4,37	850,0
	0,0	Ao acaso	FS+A	19,73	19,50	3,45 ^b	670,0 ^b	3,06	600,0	4,32	850,0
	2,0		RM+PC	18,48	19,52	3,8 ^a	710,0 ^a	3,12	570,0	4,29	800,0
(62)	1,5	Quadrado	SM	23,85	25,11	3,85	911,5	3,19 ^a	756,9	-	-
	1,5	Latino	FM	23,76	23,67	3,53	825,0	2,98 ^b	702,3	-	-
	1,5	4x4	FT	22,69	24,75	4,07	919,7	3,12 ^a	701,1	-	-
	5,0		FA	23,42	24,13	3,73	862,5	3,17 ^a	732,2	-	-
(64)	0,5	Inteiramente	SA+SM	32,6	33,9	4,31	1400,0	3,35	1090,0	-	-
	0,9	Casualizado	MG+FS	32,2	33,8	4,39	1410,0	3,34	1070,0	-	-
(65)	0,0		SM	35,3	31,8	3,35	1180,0	3,11	1090,0	-	-
	0,0	Inteiramente	FS	33,0	29,6	3,36	1090,0	3,01	980,0	-	-
	0,0	Casualizado	CA	33,5	30,6	3,42	1140,0	3,02	1000,0	-	-
	0,0			33,3	29,2	3,17	1050,0	3,04	1010,0	-	-
	0,37			35,2	30,4	3,05	1070,0	3,06	1080,0	-	-
(66)	0,5	Quadrado	sa	42,3	38,4	3,21	1230,0	3,14	1300,0	-	-
	0,33	Latino	SM	42,8	40,0	3,36	1310,0	3,14	1340,0	-	-
	0,17	4x4		42,4	40,2	3,28	1330,0	3,07	1300,0	-	-
	0,0			41,5	39,4	3,40	1320,0	3,04	1230,0	-	-

¹V=volumoso; C=concentrado; CA=cana-de-açúcar; SCE=silagem de capim elefante; SS+PF=silagem de sorgo+palma forrageira; SM=silagem de milho; SA= silagem de alfafa; FS=farelo de soja; RM=raspa de mandioca; PC=polpa cítrica; FT=farelo de trigo; FA=farelo de algodão; MG=milho grão; MF=milho fubá; GM=glúten de milho; A=amiréia; CA=caroço de algodão.

²Analizados por meio de regressão (* = significativo a 5 ou 10%) e/ou teste de média (letra = significativo a 5%).

³Equações de regressão: (36) para PL (kg/dia) $Y=21,1406-0,443459*NNP$, para PLC (kg/dia) $Y=24,2628-0,520527*NNP$, para G (g/dia) $Y=931,081-20,2433*NNP$, para PB(%) $Y=3,53552-0,0355697*NNP$, para PB (g/dia) $Y=738,468-21,2528*NNP$. (37) para PL (kg/dia) $Y=16,57-0,03*NS$, para PLC (kg/dia) $Y=15,77-0,02*NS$, para G (%) $Y=3,68+0,002*NS$, para G (g/dia) $Y=610-0,8*NS$; (35) para PLC (kg/dia) $Y=24,2912-0,57799*NNP$, para G (%) $Y=4,96662-0,127155*NNP$, para PB (%) $Y=2,7551+0,336078*NNP-0,0432*NNP^2$, para PB (g/dia) $Y=373,067+131,27*NNP-14,7809*NNP^2$; (61) PL (kg/dia) $Y=20,0745-0,2924*NNP$, para PLC (kg/dia) $Y=19,4474-0,2250*NNP$.

Dessa forma, a inclusão de NNP em rações de vacas em lactação é benéfica, desde que realizada com fontes adequadas de proteína não degradável no rúmen e consideradas as particularidades entre os diferentes sistemas de produção de leite. As alterações na composição da proteína do leite devem ser levadas em consideração, quando se escolhe qual fonte de proteína degradável deverá ser utilizada em ruminantes (56), pois a proteína microbiana representa a maior parte do *pool* de aminoácidos que chega ao intestino delgado.

2

CONCLUSÕES

A utilização de fontes de nitrogênio não-protéico, entre elas a uréia, consiste em uma das fontes viáveis a fim de reduzir os custos de alimentação, sem interferir negativamente na produção de leite. Embora a inclusão de fontes de nitrogênio não protéico na dieta de vacas leiteiras seja prática comum em sistemas de produção de leite, são necessários mais estudos visando maior otimização e eficiência do uso de nitrogênio dietético e redução de perdas para o ambiente.

REFERÊNCIAS

1. Santos FAP, Huber JT, Theurer CB, Swingle RS, Simas JM, Chen KH, et al. Milk yield and composition of lactating cows fed steam-flaked sorghum and graded concentrations of ruminally degradable protein. *J. Dairy Sci.* 1998; 81: 215-20.
2. National Research Council. Nutrient requirements of dairy cattle. Washington: National Academy of Science, National Academy Press; 2001.
3. Santos JEP, DePeters J, Jardon PW, Huber JT. Effect of prepartum dietary protein level on performance of primigravid and multiparous Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2001a; 84: 213-24.
4. DePeters EJ, Ferguson JD. Nonprotein nitrogen and protein distribution in the milk of cows. *J. Dairy Sci.* 1992; 75: 3192-209.
5. Broderick GA. Effects of varying dietary protein and energy levels on the production of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2003; 86: 1370-81.
6. Hojman D. Relationships between milk urea and production, nutrition and fertility traits in Israeli Dairy herds. *J. Dairy Sci.* 2004; 87: 1001-11.
7. Santos GT, Cavalieri FLB, Modesto EC. Recentes avanços em nitrogênio não protéico na nutrição de vacas leiteiras. In: Anais do 22º Simpósio Internacional em Bovinocultura de Leite: novos conceitos em nutrição; 2001b, Lavras. Lavras: UFLA; 2001b. p.199-228.
8. Visek WJ. Ammonia: its effects on biological systems, metabolic hormones, and reproduction. *J. Dairy Sci.* 1984; 67: 481-98.
9. Ortolani EL, Antonelli AC. Acute ammonia poisoning in cattle – a review. *Curr top toxicol.* 2004; 1: 19-32.
10. Ortolani EL, Antonelli AC. Ammonia toxicity from urea in a Brazilian dairy goat flock. *Vet. Hum. Toxicol.* 2000; 42: 87-9.

11. Froslic A. Feed-related urea poisoning in ruminants. *Folia Vet. Lat.* 1977; 7: 17-37.
12. Mackie RJ, White BA. Recent advances in rumen microbial ecology and metabolism: potential impact on nutrient output. *J. Dairy Sci.* 1990; 73: 2971-95.
13. Ørskov ER. Protein nutrition in ruminants. San Diego: Academic Press; 1992. 175p.
14. Broderick GA, Wallace RJ, Orskov ER. Control of rate and extent of protein degradation. In: Tsuda T, Sasaki Y, Kawashima R, editors. *Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants*. New York: Academic Press; 1991. p.541-92.
15. Leng RA, Nolan JV. Nitrogen metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 1984; 67: 1072-89.
16. Forbes JM, France J. Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism. Oxon: Cab International; 1993. 515p.
17. Van Soest PJ. Nutritional ecology of the ruminant. 2nd ed. Ithaca: Cornell University; 1994. 476p.
18. Jouany JP, Ushida K. The role of protozoa in feed digestion. *Asian- Aust J Anim Sci.* 1999; 12: 113-28.
19. Swenson MJ, Reece WO. *Dukes-fisiologia dos animais domésticos*. 11º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1996. 856p.
20. Koenig KM, Newbold CJ, McIntosh FM, Rode LM. Effects of protozoa on bacterial nitrogen recycling in the rumen. *J. Anim. Sci.* 2000; 78: 2431-45.
21. Bach A, Calsamiglia S, Stern MD. Nitrogen metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 2005; 88: 9-21.
22. Valadares Filho S. Exigências nutricionais de gado de leite. In: *Anais do Simpósio Mineiro de Nutrição de Gado de Leite; 2002*, Belo Horizonte. Belo Horizonte: Escola de Veterinária, UFMG; 2002.
23. Westwood CT, Lean LJ, Kellaway RC. Indications and implications for testing of milk urea in dairy cattle: a quantitative review. Part 2. Effect of dietary protein on reproductive performance. *N Z Vet J.* 1998; 46: 123-30.
24. Helmer LG, Bartley EE, Deyoe CW. Feeding processing VI-comparison of starea, urea and soybean meal as protein sources for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1970; 53: 883-7.
25. Clark JH, Klusmeyer TH, Cameron MR. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to duodenum of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1992; 75: 2304-23.
26. Hoover CW, Stokes SR. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. *J. Dairy Sci.* 1991; 74: 3630-8.
27. Bach A, Huntington GB, Calsamiglia S, Stern MD. Nitrogen metabolism of early lactation cows fed diets with two different levels of protein and different amino acid profiles. *J. Dairy Sci.* 2000; 83: 2585-95..

28. Rennó FP, Pereira JC, Leite CAM, Rodrigues MT, Campos OF, Fonseca DM, et al. Avaliação bioeconômica de estratégias de alimentação em sistemas de produção de leite 2. Metodologia alternativa: nível de utilização de capital. *Rev. Bras. Zootec.* 2008; 37: 754-64.
29. Aquino A, Lima YVR, Botaro BG, Alberto CSS, Peixoto Jr. KC, Santos MV. Effects of dietary urea levels on milk protein fractions of Holstein cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2008; 140: 191-8.
30. Nelson DL, Cox MM. *Lehninger principles of biochemistry.* 3th ed. New York: Worth; 2000. 1152p.
31. Morris SMJR. Regulation of enzymes of the urea cycle and arginine metabolism. *Annu Rev Nutr.* 2002; 22: 87-105.
32. Owens FN, Zinn R. Protein metabolism of ruminants. In: Church CD. *The ruminant animal: digestive physiology and nutrition.* New Jersey: Waveland Press; 1993. p.564.
33. Imaizumi H, Santos FAP, Pirez AV, Juchem SO. Fontes protéicas e de amido com diferentes degradabilidades ruminais para alimentar vacas leiteiras. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 2006; 41: 1413-20.
34. Carmo CA, Santos FAP, Imaizumi H, Pires AV, Scoton RA. Substituição do farelo de soja por uréia ou amiréia para vacas em final de lactação. *Acta Sci. Agron.* 2005; 27: 277-86.
35. Silva RMN. Uréia para vacas em lactação. 1. Consumo, digestibilidade, produção e composição do leite. *Rev. Bras. Zootec.* 2001; 30: 1639-49.
36. Oliveira AS, Valadares RFD, Cecon SC, Oliveira PR, Silva GA, Costa RMN, et al. Consumo, digestibilidade aparente, produção e composição do leite de vacas alimentadas com quatro níveis de compostos nitrogenados não-protéicos. *Rev. Bras. Zootec.* 2001; 30: 1358-66.
37. Ramalho RP, Ferreira MA, Chaves ASV, Santos DC, Cavalcanti CVA, Rocha VRR. Substituição de farelo de soja pela mistura raspa de mandioca e uréia em dietas para vacas mestiças em lactação. *Rev. Bras. Zootec.* 2006; 35 supl: 1212-20.
38. Chalupa W, Sniffen C. Protein and amino acid nutrition of lactating dairy cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1991; 7: 353-72.
39. National Research Council. *Nutrient requirements of dairy cattle.* Washington: National Academy of Science, National Academy Press; 1989.
40. Nousiainen J, Shingfield KJ, Huhtanen P. Evaluation of milk urea nitrogen as diagnostic of protein feeding. *J. Dairy Sci.* 2004; 87: 386-98.
41. Hof G, Vervoorn MD, Lenaers PJ, Tamminga S. Milk urea nitrogen as a tool to monitor the protein nutrition of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1997; 80: 3333-40.
42. Harris JRB. Usando os valores de nitrogênio uréico no leite (NUL) e nitrogênio uréico sanguíneo (BUN). *Inf Milk,* 1997; 1: 1-4.

43. Baker LD, Ferguson JD, Chalupa W. Responses in urea and true protein feeding schemes for protein of milk to different dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1995; 78: 2424-34.
44. Faust MA, Kilmer LH. Determining variability of milk urea nitrogen reported by commercial testing laboratories. *Dairy Report – Iowa State University*; 1996.
45. Hojman D, Gips M, Ezra E. Association between live body weight and milk urea concentration in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 2005; 88: 580-4.
46. Jonker JS, Kohn RA, Erdman RA. Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating cows. *J. Dairy Sci.* 1998; 81: 2681-92.
47. Farrell HM, Jimenez-Flores R, Bleck GT, Brown EM, Butler JE, Creamer LK, et al. Nomenclature of the proteins of cows' milk - sixth revision. *J. Dairy Sci.* 2004; 87: 1641-74.
48. DePeters EJ, Cant JP. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: a review. *J. Dairy Sci.* 1992; 75: 2043-70.
49. Santos FP, Huber JT. Quality of bypass protein fed to high-producing cow is important. *Feedstuffs.* 1996; 12-5.
50. Broderick GA, Craig WM, Ricker DB. Urea versus true protein as supplement for lactating dairy cows fed grain plus mixtures of alfalfa and corn silages. *J. Dairy Sci.* 1993; 76: 2266-74.
51. Roseler DK, Ferguson JD, Sniffen CJ, Herrema J. Dietary protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk nonprotein nitrogen in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 1993; 76: 525-34.
52. DePeters EJ, Palmquist DL. Effect of fish meal and calcium salts of long chain fatty acids on the nitrogen content of milk. *J. Dairy Sci.* 1990; 73: 242.
53. Winsryg MD, Arambel MJ, Waters JL. The effect of protein degradability on milk composition and production of early lactation, somatotropin-injected cows. *J. Dairy Sci.* 1991; 74: 1648-53.
54. Bateman HG, Spain JN, Kerley MS, Belyea RL, Marshall RT. Evaluation of ruminally protected methionine and lysine or blood meal and fish meal as protein sources for lactating Holsteins. *J. Dairy Sci.* 1999; 82: 2115-20.
55. Coulon JB, Hurtaud C, Remond B, Verite R. Factors contributing to variation in the proportion of casein in cows' milk true protein: a review of recent INRA experiments. *J. Dairy Res.* 1998; 65: 375-87.
56. Sampelayo MRS, Pérez ML, Gil Extremera F, Boza JJ, Boza J. Use of different dietary protein sources for lactating goats: milk production and composition as functions of protein degradability and amino acid composition. *J. Dairy Sci.* 1999; 82: 555-65.
57. Sampelayo MRS, Amigo L, Ares JL, Sanz B, Boza J. The use of diets with different protein sources in lactating goats: composition of milk and its suitability for cheese production. *Small Rumin Res.* 1998; 31: 37-43.

58. National Research Council - NRC. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th..ed. Washinton; 2001. 381p.
59. Aquino A, Botaro BG, Ikeda FS, Rodrigues PHM, Martins MF, Santos MV. Efeito de níveis crescentes de uréia na dieta de vacas em lactação sobre produção e composição físico-química do leite. Rev. Bras. Zootec. 2006; 36: 881-7.
60. Melo AAS, Ferreira MA, Verás ASC, Lira MA, Lima LE, Vilela MS, et al. Substituição parcial do farelo de soja por uréia e palma forrageira em dietas para vacas em lactação. Digestibilidade. Acta Sci Anim Sci. 2003; 25: 339-45.
61. Oliveira MMNF, Torres CAA, Filho CCV, Santos ADFS, Properi CP. Uréia para vacas leiteiras no pós-parto: desempenhos rodutivo e reprodutivo. Rev Bras Zootec. 2004; 33 (Supl. 3): 2266-73.
62. Pina DS, Filho SCV, Valadares RFD, Detmann E, Campos JMS, Fonseca MA, et al. Síntese de proteína microbiana e concentrações de uréia em vacas alimentadas com diferentes fontes de proteína. Rev. Bras. Zootec. 2006; 35: 1552-9.
63. Cabrita ARJ, Fonseca AJM, Dewhurst RJ, Sampaio CVP, Miranda MFS, Sousa GNS, et al. Nitrogen supplementation of corn silages. 1. Effects on feed intake and milk production of dairy cows. J. Dairy Sci. 2003; 86: 4008–19.
64. Dunlap T, Kohn RA, Douglass LW, Erdman RA. Diets deficient in rumen undegraded protein did not depress milk production. J. Dairy Sci. 2000; 83: 1806-12.
65. Davidson S, Hopkins BA, Diaz DE, Bolt SM, Brownie C, Fellner V, et al. Effects of mounts and degradability of dietary protein on lactation, nitrogen utilization, and excretion in early lactation holstein cows. J. Dairy Sci. 2003; 86: 1681-9.
66. Reynal S M, Broderick GA. Effect of dietary level of rumen-degraded protein on production and nitrogen metabolism in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 2005; 88: 4045-64.

Recebido em: 10/11/2008

Aceito em: 14/07/2009