

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

**SUBSTITUIÇÃO DE URÉIA POR CLORETO DE AMÔNIA
EM DIETAS DE BOVINOS: DIGESTIBILIDADE, SÍNTESE
DE PROTEÍNA MICROBIANA, PARÂMETROS
RUMINAIS E SANGÜÍNEOS**

**Autor: Román David Castañeda Serrano
Orientador: Antonio Ferriani Branco**

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

**MARINGÁ
Estado do Paraná
Abril – 2008**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

**SUBSTITUIÇÃO DE URÉIA POR CLORETO DE AMÔNIA
EM DIETAS DE BOVINOS: DIGESTIBILIDADE, SÍNTESE
DE PROTEÍNA MICROBIANA, PARÂMETROS
RUMINAIS E SANGÜÍNEOS**

**Autor: Román David Castañeda Serrano
Orientador: Antonio Ferriani Branco**

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

**MARINGÁ
Estado do Paraná
Abril – 2008**

“Eu não posso mudar a direção do vento, mas posso ajustar minhas velas para sempre
alcançar meu destino”

James Dean

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

A minha cidade Corrales – Boyacá e minha grande nação Colômbia,
porque estão no meu coração

A minha namorada,

Lina Maria Peñuela Sierra,
por fazer minha vida ainda mais feliz

DEDICO...

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar de meu lado sempre;

Ao Prof. Antonio Ferriani Branco, pela extraordinária orientação nestes quase 3 anos de convivência, pelos conselhos, pela confiança depositada e por ser exemplo de honestidade e integridade;

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 Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos;

À Sabrina Marcantonio Coneglian e Marcelo Fracaro, pela amizade incondicional desde o primeiro dia e pelo acolhimento nesta terra.

Ao Julio Barreto, Fernanda Fereli, Fernanda Granzotto, Daniel Mano, Silvana Teixeira, Claudia de Lazzari, Lorryny Galoro, Beatriz Lima, 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 (Val, Denilson, Wilson, Cleusa, Creuza e Zé).

Aos queridos amigos que compartilham todas as etapas de minha vida, em especial,
Elkin Varela, Fernely Plazas, Janier Caicedo, Joaquin Caro.

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 Medica Veterinária e Zootecnia pela Universidad Del Tolima, Ibagué - Colômbia.

Em Março de 2006, iniciou-se 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, submeteu-se à banca examinadora para a defesa da Dissertação de Mestrado.

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE TABELAS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xii
I - INTRODUÇÃO GERAL	01
1.1. Metabolismo protéico em ruminantes.....	01
1.2. Utilização de nitrogênio não-protéico (NNP) na dieta de ruminantes.....	03
1.3. Uréia na alimentação de ruminantes	04
1.4. Cloreto de amônia na alimentação de ruminantes	06
1.5. Literatura citada.....	08
II - OBJETIVOS GERAIS.....	12
III – SUBSTITUIÇÃO DE URÉIA POR CLORETO DE AMÔNIA EM DIETAS DE BOVINOS: DIGESTIBILIDADE, SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA, PARÂMETROS RUMINAIS E SANGÜÍNEOS	13
Resumo	13
Abstract.....	14
Introdução	15
Material e Métodos.....	16
Resultados e Discussão.....	21
Conclusões	30
Literatura Citada.....	31
IV – CONCLUSÕES GERAIS.....	35

ÍNDICE DE TABELAS

Página

III – SUBSTITUIÇÃO DE URÉIA POR CLORETO DE AMÔNIA EM DIETAS DE BOVINOS: DIGESTIBILIDADE, SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA, PARÂMETROS RUMINAIS E SANGÜÍNEOS	13
TABELA 1 – Composição química dos alimentos usados nas dietas experimentais ...	17
TABELA 2 – Composição percentual das dietas experimentais (base em 100% de MS) ..	18
TABELA 3 – Médias, equações de regressão, coeficientes de determinação (r^2) e erro padrão (EP) para ingestão (ING) e coeficiente de digestibilidade aparente total (CDAT) da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro, extrato etéreo, carboidratos não fibrosos, nutrientes digestíveis totais observados (NDTS) e calculados (NDTW)	23
TABELA 4 – Médias, equações de regressão, coeficientes de determinação (r^2) e erro padrão (EP) para o pH e nitrogênio amoniacal (N-NH ₃) do líquido ruminal ..	25
TABELA 5 - Médias, equações de regressão, coeficientes de determinação (r^2) e erro padrão (EP) para o pH da urina (pH), volume urinário (VUR), excreção diária de alantoína (ALA), ácido úrico (AcU), derivados de purinas (DP), purinas absorvidas (Pabs), estimativa de síntese de compostos nitrogenados microbianos (Nmic), eficiência de síntese de proteína microbiana (Efi) e N-uréia plasmática (NUP) ..	28

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

III - SUBSTITUIÇÃO DE URÉIA POR CLORETO DE AMÔNIA EM DIETAS DE BOVINOS: DIGESTIBILIDADE, SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA, PARÂMETROS RUMINAIS E SANGÜÍNEOS	13
FIGURA 1 – Variação no pH ruminal de bovinos recebendo dietas com diferentes níveis de substituição da uréia por cloreto de amônia	25
FIGURA 2 – Variação na concentração de amônia ruminal de bovinos recebendo dietas com diferentes níveis de substituição da uréia por cloreto de amônia	26

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da substituição da uréia pelo cloreto de amônia em dietas de bovinos, sobre a digestibilidade aparente total dos nutrientes, parâmetros ruminais e sanguíneos, e síntese de proteína microbiana. Foram utilizados cinco bovinos da raça Holandês, Preto e Branco, com 450 kg de peso vivo. O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 5 x 5, onde os tratamentos consistiram em níveis de 0, 25, 50, 75 e 100% de substituição da uréia pelo cloreto de amônia. Houve uma redução linear ($P < 0,05$) na ingestão de MS, MO, PB, FDN e EE, com a inclusão do cloreto de amônia na dieta. Houve aumento linear ($P < 0,05$) no fluxo fecal e na digestibilidade aparente total ($P < 0,05$) da MS, MO, PB e FDN, além do NDT, com a inclusão do cloreto de amônia na dieta. Houve diferença entre os tratamentos ($P < 0,05$) para o pH na urina, observando-se um efeito quadrático da inclusão de cloreto de amônia na dieta. Houve aumento linear ($P < 0,05$) entre os tratamentos para o volume urinário com a inclusão do cloreto de amônia na dieta. Entretanto, os tratamentos não influenciaram ($P > 0,05$) a excreção diária de alantoína, derivados de purinas, purinas absorvidas, assim como na estimativa de síntese de compostos nitrogenados microbianos e eficiência microbiana. Mas observou-se aumento linear ($P < 0,05$) na excreção de ácido úrico na urina. O pH do líquido ruminal caiu linearmente ($P < 0,05$) com a substituição da uréia pelo cloreto de amônia, mas os tratamentos não influenciaram ($P > 0,05$) a concentração de amônia no rúmen. Observou-se aumento linear no N-uréia plasmática com a inclusão de cloreto de amônia. Estes resultados mostram um possível uso do cloreto de amônia como uma fonte de NNP para bovinos. Todavia deve-se considerar a proporção a ser usada sem afetar a ingestão. Pode-se sugerir que o cloreto permitiu uma utilização mais eficiente do N no rúmen e tal fato poderia ser melhor entendido em dietas com alto teor de carboidratos não fibrosos.

Palavras chave: amônia, ingestão, sais aniônicos, nitrogênio não protéico, purinas, síntese microbiana.

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate effects of replacing urea with ammonium chloride in cattle diets on total apparent digestibility of nutrients, rumen and plasma parameters, and synthesis of microbial protein. Five Holstein steers weighting 450 kg were used. Statistical design was a Latin square 5 x 5, where treatments consisted of five replacement levels, 0, 25, 50, 75 and 100% of urea by ammonium chloride. There was a linear decrease ($P < 0.05$) on intake of DM, OM, CP, NDF and EE as result of ammonium chloride inclusion in diet. There was a linear increase ($P < 0.05$) on fecal flow and on total apparent digestibility ($P < 0.05$) of DM, OM, CP and NDF, and on TDN as urea was replaced by ammonium chloride. There was a quadratic effect ($P < 0.05$) as result of ammonium chloride use. Urine volume increased linearly ($P < 0.05$) when urea was replaced by ammonium chloride. However, treatments did not influence ($P > 0.05$) daily excretion of allantoin, purine derivatives, absorbed purines, as well as microbial nitrogen compounds and microbial efficiency synthesis. Replacement of urea by ammonium chloride produced a linear increase ($P < 0.05$) on uric acid excretion in urine. Rumen pH decreased linearly ($P < 0.05$) but treatments did not influence ($P > 0.05$) ammonia concentration in the rumen as urea was replaced by ammonium chloride. on urea nitrogen in plasma with the ammonia chloride inclusion produced a linear decrease. These results show a possible use of ammonia chloride as NPN source for cattle, but it is important to considerer that increased levels of ammonium chloride decrease intake. Results suggest that ammonium chloride could give a more efficient utilization of N in the rumen, and such fact could be better understood in diets with high concentration of non-fibrous carbohydrates.

Key-words: ammonium, intake, anionic salts, non protein nitrogen, purines, microbial protein.

I – INTRODUÇÃO GERAL

1.1. Metabolismo protéico em ruminantes

O metabolismo protéico no trato gastrointestinal de ruminantes tem sido muito pesquisado desde as décadas de 80. Os resultados obtidos têm sido utilizados para modelar sistemas de nutrição de ruminantes em diferentes países, como nos Estados Unidos (NRC 1985, 1989, 1996, 2001), CNCPS (Fox et al., 2000), Reino Unido (AFRC, 1995) e na França (INRA, 1988).

Em animais monogástricos o valor da proteína ingerida pelo animal é determinado por sua composição em aminoácidos, nos ruminantes a situação difere pelo fato que as proteínas ingeridas, como outros nutrientes, podem ser utilizados pela população microbiana no rúmen e, assim, sofrer intensa degradação e síntese antes de passar ao abomaso e intestino delgado, onde são digeridas e absorvidas de maneira similar aos monogástricos (NRC, 1985).

A proteína bruta contida nos alimentos empregados em dietas para ruminantes é composta por uma fração degradável no rúmen (PDR) e uma fração não degradável no rúmen (PNDR) (Bohnert et al., 2002). A proteína dos alimentos é degradada no rúmen pelas proteases microbianas, no caso da uréia ocorre pela ação da urease, levando à formação de amônia e gás carbônico (Teixeira et al., 1998). Todavia a amônia também pode resultar da autólise ou processos de predação de microrganismos, e da uréia que entra no rúmen através da saliva ou por difusão no sentido do sangue para o rúmen (Marini et al., 2004).

Estudos realizados com bactérias e protozoários do rúmen têm mostrado que ambos possuem atividade proteolítica, mas a atividade específica da fração bacteriana tem sido 6 a 10 vezes maior que a dos protozoários (Cotta & Hespell, 1986). Entretanto, Russell et al. (1981) estudando a produção de amônia a partir de proteína em várias culturas

vivas, identificou as principais espécies de microrganismos envolvidas no processo de degradação da proteína, sendo eles: *Bacteroides rumenicola*, *Bacteroides amylophilus*, *Selemonas ruminantium* e algumas cepas de *Streptococcus bovis* e *Butyrivibrio fibrisolvens*.

Para um melhor entendimento Hvelplund (1991) descreve que o metabolismo do nitrogênio no rúmen pode ser dividido em dois processos. O primeiro é a degradação da proteína da dieta, mediada pela atividade proteolítica dos microrganismos do rúmen, o segundo é a síntese de proteína microbiana (Pmic) no rúmen a partir da energia disponível durante a fermentação de carboidratos.

A degradação da proteína no rúmen fornece um suprimento contínuo de peptídeos, aminoácidos, e amônia para o crescimento dos microrganismos e conseqüente síntese de proteína microbiana, sendo esta a principal fonte de proteína metabolizável (PM) para o ruminante. Segundo o NRC (1996) 50 a 100% da PM exigida pelo bovino de corte pode ser atendida Pmic. Entretanto, Santos (2006) relata que a Pmic pode representar ao redor de 45% a 55% da PM no intestino de vacas leiteiras de alta produção, 55% a 65% em bovinos de corte confinados com rações ricas em energia e mais de 65% em bovinos mantidos exclusivamente em pastagens, portanto todo programa nutricional só terá sucesso se a produção de Pmic for otimizada.

Com relação à origem da Pmic, Owens & Zinn (1993) e Santos (2006) concordam que embora os protozoários representem uma porção significativa da massa microbiana, o verdadeiro aporte de protozoários no intestino delgado não é conhecido com segurança, estima-se que 90% da PM é de origem bacteriana. A quantidade e qualidade da Pmic que chega ao intestino delgado é resultado da degradação e síntese no rúmen. A eficiência de produção de Pmic varia com a dieta (quantidade e qualidade) e depende de fatores como: espécies de microrganismos presentes, substratos específicos, pressão de hidrogênio e pH. A presença dos carboidratos também aumenta a eficiência de síntese microbiana (Nolan, 1993). Segundo Clark et al. (1992) energia e nitrogênio são os fatores que mais afetam o crescimento microbiano.

A reciclagem de nitrogênio e o ciclo da uréia em ruminantes estão intimamente relacionados, o processo de reciclagem começa quando a amônia é absorvida pela parede do rúmen e é imediatamente transportada pela circulação entero-hepática via veia porta para o fígado, onde é intensamente metabolizada. No fígado a amônia é convertida em uréia e posteriormente excretada na urina ou reciclada através da saliva ou por difusão através da parede do trato digestório (Van Soest, 1994).

Segundo Silva (1979) a taxa de retorno de nitrogênio na forma de uréia através da saliva é de 0,3 Mol/hora, enquanto o retorno através do epitélio ruminal é de 4,9 Mol/hora. Comparando-se as taxas de retorno pode-se dizer que a difusão através do epitélio do rúmen é a principal via de entrada de uréia endógena no rúmen. Todavia estas taxas podem ser alteradas em função da nutrição protéica do animal, neste sentido, Fernandes (2004) relata que a quantidade e proporção do nitrogênio reciclado em ruminantes dependem de fatores ligados a dieta. Entre estes, temos o teor de nitrogênio da dieta, sua degradabilidade no rúmen, proporção forragem: concentrado e consumo de carboidratos rapidamente fermentáveis.

1.2. Utilização de nitrogênio não-protéico (NNP) na dieta de ruminantes

Por definição, NNP é todo nitrogênio que não se apresenta na forma polipeptídica (Haliburton & Morgan, 1989). O conceito do uso de componentes nitrogenados não protéicos 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. Segundo Lucci (1997) a recomendação para seu emprego é baseada em novos conhecimentos de taxas de degradabilidade protéica no rúmen, do teor de NNP da forragem e do nível adequado de amônia e energia dentro do rúmen.

Por outro lado a substituição da proteína de origem vegetal ou animal da dieta pelo NNP diminui o custo do nitrogênio e com freqüência o custo da suplementação protéica (Oliveira et al., 2001). Outra consideração é que a produção raramente aumenta com o uso do NNP, e assim, sua utilização deve ser estratégica e baseada no conhecimento da disponibilidade e custo dos alimentos. É importante lembrar que atualmente o custo da uréia é dependente dos preços internacionais do petróleo, logo, à medida que o petróleo atinge preços históricos mais altos a uréia apresentara custo mais elevado (Kajita et al., 2004).

Uma correta suplementação com NNP na dieta só contribuirá de maneira positiva, se esta disponibilizar a amônia necessária para as bactérias do rúmen. Segundo Owens & Zinn (1993) a amônia também pode ter efeitos adicionais no rúmen e tecidos. Em primeiro lugar, por ser uma base, a amônia mantém o pH do rúmen mais próximo da neutralidade. Segundo, a amônia pode ser utilizada pelo fígado para sintetizar aminoácidos não essenciais. Todas as considerações anteriores com respeito ao NNP

foram feitas levando em conta a uréia como fonte principal devido a sua importância e maior utilização.

Oliveira Jr et al. (2004) destacam que por muitos anos a pesquisa tem estudado a liberação de amônia no rúmen, uma vez que a amônia é utilizada para a multiplicação dos microrganismos e estes dependem da disponibilidade de energia. O conceito de que a taxa de liberação de nitrogênio amôniacal deve coincidir com a taxa de digestão dos carboidratos é cada vez mais claro. Este fato tem levado a indústria a buscar o desenvolvimento de compostos de liberação mais lenta do NNP, como é o caso do biureto e da amiréia, os quais evitariam ou diminuiriam o risco de intoxicação (Currier et al., 2004; Pires et al., 2004).

Por muitos anos os pesquisadores têm procurado novas alternativas de NNP além da uréia, devido as características vantajosas que fazem possível sua utilização na alimentação de ruminantes, entre elas: compostos de purinas e pirimidinas, biureto, ácido úrico, glicosídeos nitrogenados, alcalóides, sais de amônio e nitratos, glutamato monossódico entre outros.

1.3. Uréia na alimentação de ruminantes

A uréia ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) é um composto orgânico sólido, altamente higroscópico, solúvel em água e álcool, de cor branca e sabor amargo, seu pH é 9,0 sendo classificada como amida, por isso é considerada um composto nitrogenado não-protéico (NNP) (Silva, 1979; Santos et al., 2001). A uréia comercializada no Brasil contém 46,4% de N; 0,55% de Biureto; 0,008% de amina livre; 0,003% de cinza e 0,003% de ferro e chumbo (Santos et al., 2001).

A uréia possui algumas características como: é deficiente em todos os minerais, não possui valor energético próprio, é extremamente solúvel e no rúmen é rapidamente convertida em amônia (Maynard et al., 1984). Todavia, Currier et al. (2004) relataram que o uso da uréia pelos ruminantes é limitado em virtude de sua baixa aceitabilidade, sua segregação quando misturada com farelos, e sua toxicidade agravada pela elevada solubilidade no rúmen.

A qualidade e quantidade de carboidratos que compõem a ração concentrada são de grande importância para a eficiência da utilização de uréia pelos microrganismos do rúmen. Por exemplo, é bem sabido que a adição de amido a ração que contém uréia promove melhor utilização desta em comparação com outra fonte de carboidrato (Gonçalves, 2003).

A associação de uréia aos alimentos volumosos, em relação ao seu emprego junto aos concentrados, traz uma série de vantagens, entre estas, mascara o gosto desagradável da uréia propiciando o consumo mais uniformizado durante às 24 horas do dia pela ingestão mais lenta desse alimento que assim diminuirá a formação de picos de amônia no interior do rúmen, não só diminuindo o risco de intoxicação como também melhorando o aproveitamento do NNP (Currier et al., 2004). Os alimentos volumosos são ricos em fibras e liberam energia de forma lenta, o qual poderia diminuir o potencial do uso da uréia.

A uréia contém um equivalente de 282% de PB e quando ingerida, no rúmen é rapidamente hidrolisada a NH_3 e CO_2 pelos microrganismos ureolíticos. Segundo Koster et al. (2002) isso ocorre normalmente e é independente da suplementação com uréia na dieta, já que os ruminantes reciclam uréia pela saliva ou por difusão através da parede do rúmen via corrente sangüínea. Com o uso da uréia na dieta, as concentrações de amônia no rúmen têm pico cerca de 1 a 2 horas após o consumo dos alimentos, o que é mais rápido do que quando ruminantes ingerem fontes de proteína verdadeira de alta degradabilidade ruminal (Santos, 2006). Entretanto, com o aumento na concentração de amônia no rúmen, há também um aumento na taxa de absorção pela parede ruminal. Isso é causado não só pelo aumento na diferença de concentração de amônia entre o rúmen e a corrente sangüínea, mas também pelo efeito tamponante da amônia, que aumenta o pH ruminal, favorecendo sua absorção (Fernandez et al., 1990). O pH do rúmen e o nível de amônia no sangue estão altamente relacionados com a intoxicação, ao contrário da amônia no rúmen e a uréia no sangue (Lucci, 1997).

O excesso de amônia liberado no rúmen pela ação da urease, não é utilizado pela população bacteriana do rúmen e é absorvido pela corrente sangüínea através da parede retículo-ruminal. O potencial ureolítico tem sido calculado entre 75 a 125 g de uréia por minuto em bovinos, e entre 6 a 10 g por minuto em ovinos, ultrapassando a capacidade de síntese de proteína bacteriana, por uma larga margem. A atividade máxima da urease ocorre num pH entre 7,0 e 8,5 (Maheadeva et al., 1976; Frosli, 1977) citados por Santos (2006).

No rúmen o N amôniacal está presente em duas formas: amônia (NH_3) e amônio (NH_4^+). Como o rúmen é um ambiente altamente reduzido, a maior parte do NH_3 -N encontra-se na forma de amônio (NH_4^+). O íon amônio tem taxa de absorção pelo epitélio ruminal muito mais baixa que a forma não ionizada. Portanto nas dietas que fornecem mais carboidratos fermentáveis no rúmen, que resultam em queda do pH, há

melhor utilização de $\text{NH}_3\text{-N}$, já que há maior crescimento microbiano, além de menor absorção de NH_3 pela parede ruminal. Essa é provavelmente uma forma de conservar N e favorecer o crescimento microbiano, principalmente quando há escassez de N na dieta (Santos, 2006).

Quanto mais alto o pH ruminal maior a concentração de amônia. Enquanto o íon amônio é hidrossolúvel e não absorvível pela parede ruminal, a amônia é lipossolúvel e muito disponível para ser absorvida (Bartley et al., 1976). Assim, condições que favoreçam o surgimento de pH alcalino, tais como jejum, dieta rica em fibra e/ou com baixo teor de carboidratos solúveis ou mesmo a ingestão de quantidades consideráveis de uréia, aumentam e aceleram a absorção de amônia para o organismo (Davidovich et al., 1977).

A toxidez da uréia depende de uma série de fatores, entre eles: o jejum; a qualidade da forragem; o consumo rápido de ração contendo uréia por animais famintos; a quantidade excessiva de uréia na ração; a adição de uréia a ração sem adequada quantidade de proteína natural e o fornecimento de ração com uréia sem adaptação do animal (Gonçalves et al., 2003). Segundo Santos (2006) a intoxicação por amônia se dá, em parte, pela alcalose metabólica, mas principalmente pela encefalopatia resultante dos efeitos tóxicos no sistema nervoso central.

Provavelmente a toxidez pela amônia ocorre quando animais mal alimentados ou em jejum recebem rações deficientes em carboidratos facilmente fermentáveis e a uréia é administrada abruptamente.

Segundo Lucci (1997) a toxicidade pela amônia ocorre com ingestões de 45 g a 50 g de uréia por 100 kg de peso vivo, em curto espaço de tempo. Enquanto que, animais bem adaptados resistiriam a quantidades duas a três vezes maiores.

1.4. Cloreto de amônia na alimentação de ruminantes

O cloreto de amônia é um produto sólido, incolor ou branco e representado pela fórmula NH_4Cl (Daintith, 1995). Comercialmente é produzido pela reação da amônia com cloreto de hidrogênio. Este material também é encontrado na natureza, em regiões vulcânicas. Algumas das aplicações do NH_4Cl são: eletrólitos de pilhas secas, agente de fixação para revestimentos com zinco, fluxo de solda (para remover camada de óxido dos metais a soldar), agente em banhos de estanhagem, componentes de galvanização, fertilizante para culturas, colas para compensados de madeira, alguns cosméticos como xampus, medicamentos expectorantes, produção de fermento, entre outros. É também

usado em curtumes, na preparação de conservas e alimentos enlatados, na fabricação de gelo (produz gelo transparente e pouco quebradiço), como produto inibidor de combustão, como agente de limpeza alcalino (produz amônia anidra), no tratamento e purificação de água (forma cloramina) e como matéria-prima na fabricação de vários produtos químicos (MSPC, 2008).

Na indústria animal o cloreto tem sido usado como sal aniônico, para controlar a febre do leite em vacas, sendo esta uma desordem metabólica, caracterizada pela insuficiência para atingir a demanda de cálcio (Ca) no parto (Del Claro et al., 2006; Goff et al., 2007). Todavia o mecanismo pelo qual o cloreto de amônia melhora a concentração plasmática de Ca nas vacas durante o parto ainda não está claro (Horst & Jorgensen, 1974). Os resultados de Wang & Beede (1992) demonstram que o uso de cloreto de amônia induziu uma acidose metabólica, melhorando assim a habilidade das vacas para manter os níveis de Ca no plasma em concentrações normais. Oetzel et al. (1988) relataram que a incidência de febre do leite diminuiu de 17% para 4% em vacas que foram alimentadas com uma dieta contendo cloreto de amônia.

Todavia, segundo Horst & Jorgensen (1974) o cloreto de amônia também tem servido como um efetivo preventivo de cálculos urinários. Inclusive o NRC (1985) recomenda o uso de 0,5% de sulfato de amônia ou cloreto de amônia na ração total, com o objetivo de diminuir a urulitose em ovinos. Entretanto, Stewart et al. (1991) observaram que em dietas com 1% de cloreto de amônio a formação de cálculos urinários foi evitada em ovinos e bezerros.

O cloreto de amônia pode ser classificado dentro do grupo dos chamados sais aniônicos, os quais têm como definição: sais com mais alta fixação de íons Cl e S (ânions) relativos para os cátions Na e K (Oetzel et al., 1988). Devido a suas características o cloreto de amônia também pode ser classificado como uma fonte de NNP para animais ruminantes, já que é um material que não contém elementos indesejáveis, é fácil de manipular, relativamente econômico e contém 26,2% de N, ou seja, um equivalente de 164% de PB.

Crookshank et al. (1973) avaliando a conversão alimentícia e o ganho de peso de bovinos alimentados com dietas contendo 25,3 g/dia de cloreto de amônia ou 25,5 g/dia de sulfato de amônia, observaram que as dietas com cloreto de amônia proporcionaram melhor conversão alimentícia e não afetaram o ganho de peso. Os autores concluíram que tanto o cloreto de amônia como o sulfato de amônia podem ser utilizados como fontes de NNP sem apresentar sintomatologia de toxicidade por amônia quando

incluídos até 1% da ração total. Os resultados de Crookshank et al. (1973) podem levar a pensar que o cloreto de amônia pode melhorar a digestibilidade dos nutrientes nas dietas sem afetar os parâmetros ruminais o qual poderia ser de grande interesse para a nutrição protéica dos ruminantes. Todavia, existe uma escassez de estudos referindo-se ao cloreto como fonte de NNP para os ruminantes.

1.5. Literatura citada

AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL - AFRC. **Technical committee on responses to nutrients: energy and protein requirements of ruminants**. Wallingford: CAB International, 1995. 159p.

BARTLEY, E. E.; DAVIDOVICH, A. D.; BARR, G. W.; GRIFFEL, G. W.; DAYTON, A. D.; DEYOE, C. W.; BECHTLE, R. M. Ammonia toxicity in cattle. I. Rumen and blood changes associated with toxicity and treatment methods. **Journal Animal Science**, v.43, p.835-841, 1976.

BOHNERT, D. W. SCHAUER, C. S. BAUER, M. L. DELCURTO T. Influence of rumen protein degradability and supplementation frequency on steers consuming low-quality forage: I. Site of digestion and microbial efficiency **Journal Animal Science**, v.80, p.2967-2977, 2002.

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

COTTA, M. A.; R. B. HESPELL. Proteolytic activity of the ruminal bacterium *Butyrivibrio fibrisolvens*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.52, p.51-58, 1986.

CROOKSHANK, H. R.; SMALLEY, H. E. DALE, F.; ELLIS, G.F. JR. Ammonium chloride and ammonium sulfate in cattle feedlot finishing rations. **Journal Animal Science**, v.36, p.1007-1009, 1973.

CURRIER, T. A. BOHNERT, D. W. FALCK, S. J. BARTLE, S. J. Daily and alternate day supplementation of urea or biuret to ruminants consuming low-quality forage: I. Effects on cow performance and the efficiency of nitrogen use in wethers. **Journal Animal Science**, v.82, p.1508-1517, 2004.

DAINTITH, J. **Dicionário Breve de Química**. Lisboa: Editorial Presença, 1995.

DAVIDOVICH, A.; BARTLEY, E.E.; CHAPMAN, T.E. et al. Ammonia toxicity in cattle. II. Changes in corotid and jugular blood components associated with toxicity. **Journal Animal Science**, v.44, n.4, p.702-709, 1977.

- DEL CLARO, G.R.; ZANETTI, M.A; CORREA, L.B.; SARAN NETTO, A.; PAIVA, F.A.; SALLES, M.S. Balanço cátion-aniônico da dieta no metabolismo de cálcio em ovinos. **Ciência Rural**, v.36, n.1, p.222-228, 2006.
- FERNANDEZ, J. M.; CROOM, W. J.; TATE, L. P.; JOHNSON, A. D. Subclinical ammonia toxicity in steers: effects on hepatic and portal-drained visceral flux of metabolites and regulatory hormones. **Journal Animal Science**, v.68, p.1726-1742, 1990.
- FERNANDES, J.J.R. **Farelo de soja em substituição á uréia para bovinos de corte em crescimento e terminação**. Piracicaba: Escola superior de agricultura Luiz de Queiroz, 2004. 74p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Escola superior de agricultura Luiz de Queiroz, 2004.
- FOX, D.G.; TYLUTKI, T.P.; VAN AMBURGH, M.E.; CHASE, L.E.; PELL, A.N.; OVERTON, T.R.; TEDESCHI, L.O.; RASMUSSEN, C.N.; DURBAL, V.M. **The Net Carbohydrate and Protein System for Evaluating Herd Nutrition and Nutrient Excretion: Model Documentation**. Mimeo No. 213, Department of Animal Science, Cornell University, Ithaca, NY, USA. 2000.
- GOFF, J. P.; BRUMMER, E. C.; HENNING, S. J.; DOORENBOS, R. K.; HORST, R. L. Effect of application of ammonium chloride and calcium chloride on alfalfa cation-anion content and yield. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.5159-5164, 2007.
- GONÇALVES, C. C. M.; TEIXEIRA, J. C.; OLALQUIAGA PÉREZ, J. R. et al. Desempenho de bovinos de corte a pasto suplementados com uréia e Amiréia 150S no período seco. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria: SBZ, 2003.
- HALIBURTON, J. C.; MORGAN, S. E. Nonprotein nitrogen-induced ammonia toxicosis and ammoniated feed toxicity syndrome. **The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, v.5, n.2, p.237-249, 1989.
- HORST, R. L.; JORGENSEN, N.A. Effect of ammonium chloride on nitrogen and mineral balance in lactating and nonlactating goats. **Journal Dairy Science**, v.57, p.683-688, 1974.
- HVELPLUND, T. Volatile fatty acids and protein production in the rumen. In: JOUANY, J.P. (Ed.) **Rumen microbial metabolism and ruminant digestion**. Paris: INRA, 1991, p.165-178.
- INRA. Alimentation des Bovins, Ovins et Caprins. INRA Editions, Paris, France. 1988. 554p.
- KAJITA, F. N.; DEZORDI, L. L.; COSTA, R.N. Evolucao recente no preço do mercado mundial de petróleo e no mercado de Curitiba. **Analise Conjuntural**, v.26, n.11-12, p.19-24, 2004.

- KOSTER, H. H. WOODS, B. C. COCHRAN, R. C. VANZANT, E. S. TITGEMEYER, E. C. GRIEGER, D. M. OLSON, K. C. STOKKA G. Effect of increasing proportion of supplemental N from urea in prepartum supplements on range beef cow performance and on forage intake and digestibility by steers fed low-quality forage. **Journal Animal Science**, v.80, p.1652-1662, 2002.
- LUCCI, C.S. **Nutrição e manejo de bovinos leiteiros**. São Paulo: Manole Ltda, 1997. 169p.
- MARINI, J. C.; KLEIN, J. D.; SANDS, J. M.; VAN AMBURGH, M. E. Effect of nitrogen intake on nitrogen recycling and urea transporter abundance in lambs. **Journal Animal Science**, v.82, p.1157-1164, 2004.
- MAYNARD, L.A.; LOOSLI, J.K.; HINTZ, H.F.; WARNER, R.G. **Animal Nutrition**. Trad. FIGUEIREDO F. A.B.N. 3^a ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 1984. 736p.
- MSPC. [2008]. **Informações Técnicas (compostos Inorgânicos)**. Disponível em: <<http://www.mspc.eng.br/quim2/cpin120.shtml>> Acesso em: 10/012008.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Ruminant Nitrogen Usage**. Washington, D.C: National Academy Press, 1985. 138p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requeriment of sheep**. Washington, D.C.: National Academy of Sciences, 1985. 99p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requeriments of dairy cattle**. 6^a ed: Washington, D.C: National Academy Press, 1989. 158p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requeriments of beef cattle**. 7^a ed: Washington, D.C: National Academy Press, 1996. 242p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requeriments of dairy cattle**. 7^a ed: Washington, D.C: National Academy Press, 2001. 381p.
- NOLAN, J.V. Nitrogen kinetics. In: FORBES, J.M., FRANCE, J. (Eds.) **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. Wallingford: C.A.B. International. 1993, p.123-143.
- OETZEL, G.R.; OLSON, J.D.; CURTIS, C.R. et al. Ammonium chloride and ammonium sulfate for prevention of parturient paresis in dairy cows. **Journal Dairy Science**, v.71, p.3302-3309, 1988.
- OLIVEIRA, A.S.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.D.; CECON, P.R.; RENNÓ, L.N.; QUEIROZ, A.C.; CHIZZOTTI, M.L. Produção de Proteína Microbiana e Estimativas das Excreções de Derivados de Purinas e de Uréia em Vacas Lactantes Alimentadas com Rações Isoprotéicas Contendo Diferentes Níveis de Compostos Nitrogenados Não-Protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1621-1629, 2001.

- OLIVEIRA JR, R.C; PIRES, A.V.; FERNANDES, J.J.R.; SUSIN, I.; SANTOS, F.A.P; ARAÚJO, R.C. Substituição Total do Farelo de Soja por Uréia ou Amiréia, em Dietas com Alto Teor de Concentrado, sobre a Amônia Ruminal, os Parâmetros Sangüíneos e o Metabolismo do Nitrogênio em Bovinos de Corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.3, p.738-748, 2004.
- OWENS, F.N.; ZINN, R. Protein metabolism of ruminant animals. In CHURCH, D.C. (Ed.) *The Ruminant Animal: Digestion Physiology and Nutrition*. New Jersey: Waveland Press, Inc., Englewood Cliffs, 1993, p.227-249.
- PIRES, A.V.; OLIVEIRA JUNIOR, R.C; FERNANDES, J.J.R; SUSIN, I; SANTOS, F.A.P; ARAÚJO, R.C.; GOULART, R.C.D. Substituição do farelo de soja por uréia ou amiréia na dieta de bovinos de corte confinados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.9, p.937-942, 2004.
- RUSSELL, J. B.; BOTTJE, W. G.; COTTA, M. A. Degradation of protein by mixed cultures of rumen bacteria: Identification of *Streptococcus Bovis* as an actively proteolytic rumen bacterium. **Journal Animal Science**, v.53, p.242-252, 1981.
- SANTOS, G.T.; CAVALIERI, F.L.B.; MODESTO, E.C. Recentes avanços em nitrogênio não protéico na nutrição de vacas leiteiras. In: SINLEITE, 2001, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA. 2001. p.199-228.
- SANTOS, F.A.P. Metabolismo das Proteínas In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 583p.
- SILVA, J.F.C. **Fundamentos da nutrição de ruminantes**. Piracicaba: Livroceres, 1979. 384p.
- STEWART, S. R. EMERICK, R. J. PRITCHARD. R. H. Effects of dietary ammonium chloride and variations in calcium to phosphorus ratio on silica urolithiasis in sheep. **Journal Animal Science**, v.69, p.2225-2229, 1991.
- TEIXEIRA, J.C.; EVANGELISTA, A.R.; ALQUERES, M.M.; BARBOSA, A.C.; REIS, S.T.; PAIVA, A.C.; COSTA, G.R.; MORON, I.R. Utilização da Amireia-150S como suplemento nitrogenado para bovinos em sistema de pastejo. In: REUNIAO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1998. p.482.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminants**. 2nded. Cornell Univerisity Press, Ithaca, NY, 1994. 476p.
- WANG, C.; D. K. BEEDE. Effects of ammonium chloride and sulfate on acid-base status and calcium metabolism of dry Jersey cows. **Journal Dairy Science**, v.75, p.820-828, 1992.

II - OBJETIVOS GERAIS

O presente experimento foi conduzido com os objetivos de avaliar diferentes níveis de substituição de uréia por cloreto de amônia na dieta de bovinos e efeitos sobre a digestibilidade aparente dos nutrientes da dieta, síntese de proteína microbiana, parâmetros ruminais e sanguíneos.

III - Substituição de uréia por cloreto de amônia em dietas de bovinos: digestibilidade, síntese de proteína microbiana, parâmetros ruminais e sanguíneos

Resumo: Uma pesquisa foi conduzida com os objetivos de avaliar o efeito da substituição da uréia pelo cloreto de amônia em dietas de bovinos, sobre a digestibilidade aparente total dos nutrientes, parâmetros ruminais e sanguíneos e síntese de proteína microbiana. Foram utilizados cinco bovinos da raça Holandês, Preto e Branco, com 450 kg de peso vivo. O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 5 x 5, onde os tratamentos consistiram em níveis de 0, 25, 50, 75 e 100% de substituição da uréia pelo cloreto de amônia. Houve uma redução linear ($P < 0,05$) na ingestão de MS, MO, PB, FDN e EE, com a inclusão do cloreto de amônia na dieta. Houve aumento linear ($P < 0,05$) no fluxo fecal e na digestibilidade aparente total ($P < 0,05$) da MS, MO, PB e FDN, além do NDT, com a inclusão do cloreto de amônia na dieta. Houve diferença entre os tratamentos ($P < 0,05$) para o pH na urina, observando-se um efeito quadrático da inclusão de cloreto de amônia na dieta. Houve aumento linear ($P < 0,05$) entre os tratamentos para o volume urinário com a inclusão do cloreto de amônia na dieta. Entretanto, os tratamentos não influenciaram ($P > 0,05$) a excreção diária de alantoína, derivados de purinas, purinas absorvidas, assim como na estimativa de síntese de compostos nitrogenados microbianos e eficiência microbiana. Mas observou-se aumento linear ($P < 0,05$) na excreção de ácido úrico na urina. O pH do líquido ruminal caiu linearmente ($P < 0,05$) com a substituição da uréia pelo cloreto de amônia, mas os tratamentos não influenciaram ($P > 0,05$) a concentração de amônia no rúmen. Observou-se aumento linear no N-uréia plasmática com a inclusão de cloreto de amônia. Estes resultados mostram um possível uso do cloreto de amônia como uma fonte de NNP para bovinos. Todavia deve-se considerar a proporção a ser usada sem afetar a ingestão. Pode-se sugerir que o cloreto permitiu uma utilização mais eficiente do N no rúmen e tal fato poderia ser melhor entendido em dietas com alto teor de carboidratos não fibrosos.

Palavras chave: amônia, ingestão, sais aniônicos, nitrogênio não protéico, purinas, síntese microbiana.

III. Replacing urea with ammonium chloride in diets of cattle: digestibility, synthesis of microbial protein, rumen and plasma parameters

Abstract: This study was conducted to evaluate effects of replacing urea with ammonium chloride in cattle diets on total apparent digestibility of nutrients, rumen and plasma parameters, and synthesis of microbial protein. Five Holstein steers weighting 450 kg were used. Statistical design was a Latin square 5 x 5, where treatments consisted of five replacement levels, 0, 25, 50, 75 and 100% of urea by ammonium chloride. There was a linear decrease ($P < 0.05$) on intake of DM, OM, CP, NDF and EE as result of ammonium chloride inclusion in diet. There was a linear increase ($P < 0.05$) on fecal flow and on total apparent digestibility ($P < 0.05$) of DM, OM, CP and NDF, and on TDN as urea was replaced by ammonium chloride. There was a quadratic effect ($P < 0.05$) in urine pH as result of ammonium chloride use. Urine volume increased linearly ($P < 0.05$) when urea was replaced by ammonium chloride. However, treatments did not influence ($P > 0.05$) daily excretion of allantoin, purine derivatives, absorbed purines, as well as microbial nitrogen compounds and microbial efficiency synthesis. Replacement of urea by ammonium chloride produced a linear increase ($P < 0.05$) on uric acid excretion in urine. Rumen pH decreased linearly ($P < 0.05$) but treatments did not influence ($P > 0.05$) ammonia concentration in the rumen as urea was replaced by ammonium chloride. It was observed a linear increase in plasmatic urea nitrogen with the ammonia chloride inclusion. These results show a possible use of ammonia chloride as NPN source for cattle, but it is important to considerer that increased levels of ammonium chloride decrease intake. Results suggest that ammonium chloride could give a more efficient utilization of N in the rumen, and such fact could be better understood in diets with high concentration of non-fibrous carbohydrates.

Key-words: ammonium, intake, anionic salts, non protein nitrogen, purines, microbial protein.

Introdução

Atualmente o Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo e ocupa lugar de destaque no cenário internacional do mercado da carne bovina, pois atualmente é o maior exportador deste produto. Nas duas últimas décadas a cadeia produtiva da carne bovina tem experimentado melhorias consideráveis nos índices zootécnicos, o que tornou o país mais competitivo frente aos principais países produtores.

Os bovinos criados a pasto em clima Tropical, como é o caso do Brasil, podem sofrer carências de alguns nutrientes que afetam a produtividade. Entre os vários nutrientes essenciais, a proteína é o mais limitante para o crescimento de bovinos criados nestas condições. Para prevenir tal carência tem-se recomendado o uso de suplementos com alimentos industrializados (soja, algodão, glúten de milho, etc) ou com fontes de nitrogênio não-protéico, principalmente nos períodos mais críticos do ano. Todavia, deve-se considerar que a proteína é um dos nutrientes de custo mais elevado nas dietas dos animais e a economia da produção é altamente dependente da eficiência de utilização da proteína.

Na escolha de quais alimentos de ser incluído nos suplementos é importante considerar que o metabolismo protéico é complexo e envolve vários fatores importantes como a degradabilidade da proteína no rúmen, a utilização de amônia pelos microrganismos ruminais, a síntese de proteína microbiana, e a qualidade da proteína não degradada no rúmen. Todos os fatores citados anteriormente devem ser combinados para atender plenamente as exigências de manutenção e produção, e permitir aos animais a plena expressão de seu patrimônio genético.

Na busca pela suplementação mais econômica sem perder a eficiência, tem-se optado cada vez mais pelo uso de fontes de nitrogênio não-protéico (NNP). E neste sentido, observa-se que a uréia é a mais disponível e mais barata fonte de NNP usada na suplementação de ruminantes no mundo inteiro.

Embora o uso da uréia proporcione diversas vantagens na alimentação de bovinos, a sua utilização inadequada pode trazer sérios danos a saúde animal, tais como problemas de infertilidade em vacas e principalmente intoxicação aguda (Kitamura, 2002).

A uréia tem sido durante anos, tema de muitas pesquisas no Brasil e no mundo especialmente por se tratar de um substituto da proteína, de baixo custo e de relativa facilidade de administração. Todavia, os pesquisadores concordam que o maior

problema da uréia é sua elevada solubilidade no rúmen, sendo rapidamente transformada em amônia, além da capacidade de utilização dos microrganismos, provocando assim a intoxicação dos animais pelos altos níveis de NH_3 no sangue.

Várias fontes de NNP têm sido testadas como alternativas em substituição à uréia, e entre as mais conhecidas estão: biureto, creatinina, diureido isobutano, nitrato, ácido úrico entre outras. Todavia, tais fontes não têm trazido os resultados esperados, ou por não produzir os mesmos resultados que a uréia e outras por seu elevado custo.

Uma fonte de NNP ideal é aquela que proporciona uma boa quantidade de N para a síntese de proteína microbiana e que não provoca problemas de intoxicação nos animais. Uma fonte alternativa de NNP poderia ser o cloreto de amônia. Este composto classificado como um sal de amônia tem sido usado na indústria da alimentação animal para prevenir a febre do leite em vacas leiteiras. O cloreto de amônia induz a acidose metabólica, aumentando a mobilização de Ca do osso, aumentando a absorção de Ca no intestino, melhorando assim os problemas causados pela febre do leite. Outro uso do cloreto de amônia tem sido na prevenção de cálculos urinários em ruminantes. Todavia, são escassas as pesquisas com relação ao uso de cloreto de amônia como fonte de NNP para bovinos.

Belasco (1954) avaliou a maioria das fontes de NNP para ruminantes e concluiu que os sais de amônia (sulfato de amônia, formato de amônia, malato de amônia, carbonato de amônia etc.) foram excelentes fontes de N para os microrganismos, e indicaram altos níveis de digestão de celulose, o que pode indicar que o cloreto de amônia tenha um comportamento similar. O presente estudo avaliou os efeitos de diferentes níveis de substituição de uréia por cloreto de amônia na dieta de bovinos sobre a digestibilidade aparente dos nutrientes da dieta, síntese de proteína microbiana, parâmetros ruminais e sanguíneos.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no setor de Avaliação de Alimentos para Animais Ruminantes da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), localizada no distrito de Iguatemi, e no Laboratório de Análise de Alimentos e Nutrição Animal (LANA) do Departamento de Zootecnia, da Universidade Estadual de Maringá, no período de fevereiro a dezembro de 2007.

Foram utilizados cinco bovinos, machos, castrados, implantados com cânula no rúmen, da raça Holandesa, Preto e Branco, os quais começaram com 455 kg de peso vivo médio e terminaram com 478 kg de peso vivo médio.

Os animais permaneceram numa instalação totalmente coberta com piso concretado, em baias individuais com 8,75 m² de área útil.

A alimentação foi oferecida na forma de mistura completa, à vontade, duas vezes ao dia, pela manhã (8:30h) e à tarde (16:30h) e o consumo foi ajustado de modo a permitir 5 a 10% de sobras em relação à matéria natural do alimento fornecido. O consumo diário foi estimado pela diferença entre o fornecido e as sobras. Os animais foram pesados no início de cada período experimental, com o objetivo de ajustar o consumo de matéria seca.

O experimento foi constituído em cinco períodos experimentais de 14 dias, sendo os nove primeiros dias destinados a adaptação dos animais às dietas e o restante dos dias a coleta de amostras (sobras, fezes, urina, líquido ruminal e sangue).

Os alimentos utilizados na composição das dietas experimentais foram: silagem de cana, bagaço de cana, farelo de soja, milho, casca de soja, uréia, cloreto de amônia e suplemento mineral. A composição química destes alimentos é mostrada na Tabela 1.

Tabela 1 – Composição química dos alimentos usados nas dietas experimentais

Alimentos	Composição química dos alimentos				
	MS (%)	PB (%)	FDN (%)	FDA (%)	EE (%)
Bagaço de Cana	95,4	1,83	90,02	67,41	0,52
Silagem de Cana	25,6	3,97	66,93	41,43	0,90
Farelo de Soja	89,1	50,40	13,84	8,92	2,14
Milho	89,2	9,75	13,31	4,12	3,31
Casca de Soja	91,5	11,02	73,40	53,10	0,83
Uréia	-	282,00	-	-	-
Cloreto de Amônia	-	164,00	-	-	-
Suplemento Mineral ²	-	-	-	-	-

¹ O Suplemento mineral continha 13% de Ca, 6% de P, 1% de S, 13,5% de Na, 0,099% de Cu, 1,064% de Zn, 0,09% de Mn, 0,0054% de Co, 0,0054% de I, 0,0015% de Se, 0,247% de Fe e 0,06% de F (base 1 kg).

Os tratamentos consistiram em substituição crescente da uréia pelo cloreto de amônia: 100U= 100% uréia e 0% cloreto de amônia; 75U/25C= 75% uréia e 25%

cloreto de amônia; 50U/50C= 50% uréia e 50% cloreto de amônia; 25U/75C= 25% uréia e 75% cloreto de amônia; 100C= 0% uréia e 100% cloreto de amônia Tabela 2.

Tabela 2 – Composição percentual das dietas experimentais (base em 100% de MS)

Alimentos	Composição das dietas experimentais (%)				
	100 U	75 U	50 U	25 U	0 U
Bagaço de Cana	19,50	19,35	19,20	19,05	18,90
Silagem de Cana	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00
Farelo de Soja	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Milho	18,00	18,00	18,00	18,00	18,00
Casca de Soja	11,00	11,00	11,00	11,00	11,00
Uréia	0,80	0,60	0,40	0,20	-
Cloreto de Amônia	-	0,35	0,70	1,05	1,40
Suplemento Mineral ¹	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70
Total	100 U	75 U	50 U	25 U	0 U
PB da dieta (%)	12,21	12,21	12,22	12,23	12,24
FDN da dieta (%)	56,16	56,02	55,89	55,75	55,62
CNF da dieta ¹ (%)	25,56	25,56	25,56	25,56	25,56
NDT da dieta ¹ (%)	53,07	56,11	56,12	58,11	58,49

¹ Calculados a partir das equações de Sniffen et al. (1992).

As sobras do alimento fornecido foram recolhidas diariamente dos comedouros, durante todo o período experimental, sendo em seguida pesadas, e após, foi retirada uma amostra de 10% para compor a amostra composta por animal em cada período, sendo então congeladas a -20°C.

As amostras do bagaço de cana e da silagem de cana foram coletadas duas vezes por semana e, misturadas em amostras compostas, para cada período experimental. As amostras de milho, farelo de soja e casca de soja, foram coletadas no início de cada período experimental. Todas as amostras foram armazenadas em sacos plásticos e congeladas a -20°C.

As amostras de fezes (50 g) foram coletadas diretamente do reto no 10º e 12º dias de cada período, em dois horários diferentes, sendo no primeiro dia às 8h e às 12 horas e no segundo dia às 16:00h e às 20:00h, totalizando 4 amostras de fezes por animal/tratamento/período, as quais posteriormente foram congeladas a -20°C.

Ao término do experimento, as amostras de alimentos, das sobras e de fezes foram descongeladas, pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas e, posteriormente, trituradas em moinho de faca com peneira de porosidade 1 mm.

As amostras dos alimentos utilizados nas dietas experimentais, as sobras e as fezes foram analisadas para teores de MS, MO, PB, EE (AOAC, 1990), FDN e FDA (Van Soest et al., 1991). Os carboidratos não fibrosos foram calculados pela seguinte equação (Sniffen et al., 1992): $CNF = 100 - (\%FDN + \%PB + \%EE + \%cinzas)$.

O nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) e lignina de acordo com Van Soest et al. (1991).

Para estimativa da digestibilidade aparente dos nutrientes, utilizou-se como indicador interno a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), obtida após 144 horas de incubação *in situ* dos alimentos fornecidos, das sobras e das fezes, utilizando-se sacos TNT gramatura 100 adaptado de Cochran et al. (1986).

Os nutrientes digestíveis totais das dietas foram calculados segundo Sniffen et al. (1992): $NDT = PBD + FDND + (EED \times 2,25) + CNFD$

Para determinar o pH e a concentração de amônia no líquido ruminal, foram coletadas amostras de 100 mL no 14º dia de cada período experimental, via cânula ruminal, nos tempos 0; 2; 4; 6 e 8 horas. O tempo zero corresponde a amostra colhida imediatamente antes da primeira refeição (8:30h) e o tempo 8, imediatamente antes do fornecimento da segunda refeição (16:30h). O pH foi medido imediatamente após a coleta por meio de um peagâmetro digital e, posteriormente, 50 mL de líquido ruminal foram acidificados com 1 mL de ácido sulfúrico (1:1) e armazenado a -20°C, para posterior análise de amônia. A concentração de amônia das amostras de líquido ruminal foi determinada pela técnica de Fenner, (1965) modificada por Vieira, (1980).

Foram coletadas quatro amostras *spot* de urina, sendo duas no 10º e duas no 12º dias de cada período experimental, pela manhã antes de fornecer alimento, e entre 3 e 4 horas após o fornecimento dos alimentos (pela manhã), durante micção espontânea. Imediatamente após a coleta a urina foi homogeneizada e foi medido o pH por médio de um peagâmetro digital. Em seguida, foi filtrada através de filtros de papel e alíquotas de 15 mL foram diluídas imediatamente em 135 mL de H₂SO₄ a 0,036 N. 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°C para posteriores análises de creatinina, alantoína e ácido úrico.

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 estimativa de concentração de creatinina e ácido úrico na urina, foi realizada utilizando-se kits comerciais (Labtest).

A partir da excreção média de creatinina, obtida no experimento de Leal et al. (2007) que foi de 25,4 mg/kg de PV para bovinos da raça Holandesa com peso médio de 450 Kg, e da concentração de creatinina (mg/L) na amostra *spot* 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 excreção total de derivados de purinas (DP) 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 seguinte 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: $Nmic = (70 * Pabs) / (0,83 * 0,116 * 1000)$ em que 70 corresponde ao conteúdo de N nas purinas (mg N/mmol); 0,83 é a digestibilidade das purinas microbianas; e 0,116 a relação N purina:N total dos microrganismos ruminais (Chen & Gomes, 1992).

Foram coletadas amostras de sangue no 11º e 13º dias de cada período, às 11:00h e 19:00h, por punção da veia jugular, utilizando-se a heparina como anticoagulante. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas por 15 minutos a 2500 xg e o plasma foi transferido para tubos eppendorf considerando-se animal/horário/período. O plasma resultante foi armazenado a -20°C para posterior análise de N-uréia plasmática utilizando-se kits comerciais (Gold Analisa).

O experimento foi conduzido em delineamento experimental quadrado latino 5 x 5. Os dados foram interpretados por uma análise de variância e uma análise de regressão adotando-se 5% de probabilidade, para realizar estas análises foi utilizado o programa estatístico computacional SAS (2001).

Resultados e Discussão

Os resultados para a ingestão, fluxo fecal e coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro, extrato etéreo e carboidratos não fibrosos são mostrados na Tabela 3.

Com relação à ingestão de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e extrato etéreo (EE) houve efeito significativo ($P < 0,05$) do nível de substituição da uréia pelo cloreto de amônia. A substituição da uréia pelo cloreto de amônia diminuiu linearmente a ingestão de MS, MO, PB, FDN e EE.

A ingestão de matéria seca caiu de 8882 g/dia com a dieta contendo 100% de uréia, para 7698 g/dia na dieta contendo 100% de cloreto de amônia, o que representou 13% de redução. Os dados deste experimento concordam com os dados apresentados por Horst & Jorgensen (1974) que fornecendo 0,56 g/dia de cloreto de amônia por Kg de peso vivo para cabras em lactação, observaram uma redução da ingestão de MS. Entretanto Oetzel et al. (1988) suplementando vacas leiteiras com 100g/dia de cloreto de amônia não observaram diferenças significativas na ingestão de MS. Todavia eles relatam que os sais aniônicos podem ser pouco palatáveis e inclusive tóxicos quando administrados em uma mistura de grãos, em vez da ração total.

Conrad et al. (1977) num estudo sobre as mudanças dos padrões de alimentação e redução do consumo em ruminantes tratados com fontes de NÑP, verificaram que tanto o aumento dos níveis de cloreto de amônia quanto a uréia na dieta deprimem a ingestão do alimento. Oliveira et al. (2001a) verificaram que o consumo de MS diminuiu linearmente, quando níveis de uréia foram incluídos em substituição do farelo de soja. Em estudo realizado por Silva et al. (2001a) utilizando também níveis crescentes de uréia (0; 0,7; 1,4; e 2,1% da MS) em rações completas para vacas mestiças Holandês-Zebu, foi observado que o consumo de MS em kg/dia e % do PV diminuiu linearmente com o aumento dos teores de uréia nas dietas. Portanto, a literatura mostra que a inclusão de uréia em substituição a alimentos que contém proteína verdadeira, já reduz a ingestão, fato que pode ser acentuado pela substituição da uréia pelo cloreto de amônia.

Com relação à digestibilidade da MS, MO, PB e FDN foi observado efeito significativo ($P < 0,05$) dos diferentes níveis de substituição da uréia pelo cloreto de amônia. A substituição da uréia pelo cloreto de amônia aumentou linearmente ($P < 0,05$) a digestibilidade da MS, MO, PB e FDN. Nesse sentido, os únicos autores que relataram

resultados de digestibilidade foram Horst & Jorgensen, (1974) os quais, fornecendo 0,36 e 0,56 g/dia de cloreto de amônia por kg de peso vivo na dieta, de cabras em lactação, observaram que não houve aumento da digestibilidade da matéria seca, mas houve um aumento da digestibilidade da PB, todavia, eles relatam que esse aumento teve pouca significância biológica, pois houve um aumento da excreção urinária de N. Além disso, é difícil estabelecer em que medida a melhoria na digestibilidade foi devida a inclusão de cloreto e a redução da ingestão.

O valor do coeficiente de digestibilidade aparente da matéria orgânica foi próximo ao valor dos nutrientes digestíveis totais encontrados neste experimento, concordando com o NRC (1996).

Por outro lado, a digestibilidade aparente total do FDN aumentou linearmente ($P < 0,05$) com a inclusão do cloreto de amônia, passando de 35,2% para 39,3% para 100U e 100C, respectivamente. Em um estudo *in vitro*, utilizando líquido ruminal, e sais de amônia, entre eles sulfato de amônia, Belasco (1954) observou um excelente crescimento bacteriano, além de apresentar uma percentagem de digestão da celulose próxima ao tratamento com uréia. Os resultados obtidos por Belasco (1954) indicam que a inclusão de sais de amônia pode melhorar a digestibilidade dos nutrientes em ruminantes.

Tabela 3 - Médias, equações de regressão, coeficientes de determinação (r^2) e erro padrão (EP) para ingestão (ING) e coeficiente de digestibilidade aparente total (CDAT) da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro, extrato etéreo, carboidratos não fibrosos, nutrientes digestíveis totais observados (NDTS) e calculados (NDTW)

	Tratamentos ¹					Regressão	r^2	EP
	100U	75U/25C	50U/50C	25U/75C	100C			
Matéria seca								
ING (g/dia)	8882,8	9030,5	8901,9	8198,3	7698,1	Y = 9182,7 - 12,8 X	77,9	256,4
FF (g/dia)	4307,5	4123,7	4103,4	3680,6	3346,3	Y = 4385,4 - 9,46X	91,5	174,8
CDAT (%)	51,5	54,6	54,4	55,6	56,5	Y = 52,35 + 0,043X	85,2	0,8
Matéria orgânica								
ING (g/dia)	8374,0	8479,1	8342,1	7669,4	7190,0	Y = 8646,5 - 12,7X	80,7	250,1
FF (g/dia)	3929,9	3766,3	3757,9	3385,0	3012,8	Y = 4013,5 - 8,86X	89,6	165,5
CDAT (%)	53,1	55,8	55,4	56,4	58,1	Y = 53,61 + 0,043X	85,4	0,8
Proteína bruta								
ING (g/dia)	1102,6	1131,8	1113,6	1027,5	957,1	Y = 1145,6 - 1,58X	73,5	32,6
FF (g/dia)	452,9	420,1	427,4	365,2	335,4	Y = 458,2 + 1,16X	90,1	21,6
CDAT (%)	58,9	63,2	62,0	64,7	64,9	Y = 60,03 + 0,054X	77,2	1,1
Fibra em detergente neutro								
ING (g/dia)	4960,9	5019,3	4932,3	4500,5	4194,7	Y = 5131,8 - 8,20X	81,4	160,7
FF (g/dia)	3217,5	3142,5	3119,4	2805,9	2537,6	Y = 3303,8 - 6,78X	87,9	127,9
CDAT (%)	35,2	37,8	37,2	38,1	39,3	Y = 35,81 + 0,034X	79,9	0,67
Extrato etéreo								
ING (g/dia)	140,35	141,29	140,40	130,82	121,54	Y = 144,8 - 0,19X	78,2	3,8
FF (g/dia)	34,72	35,85	30,32	31,20	24,10	Y = 31,23	NS ²	2,1
CDAT (%)	74,95	75,50	79,22	77,27	79,95	Y = 77,38	NS	1
Carboidratos não fibrosos								
ING (g/dia)	2350,5	2432,2	2429,3	2354,9	2203,9	Y = 2354,16	NS	41,4
FF (g/dia)	275,9	216,1	219,2	205,7	191,1	Y = 221,60	NS	14,4
CDAT (%)	88,5	91,1	91,4	91,8	91,4	Y = 90,82	NS	0,6
Nutrientes digestíveis totais								
NDTW (%)	68,37	68,38	68,39	68,40	68,41	Y = 68,37 + 0,0004X	99,9	0,01
NDTS (%)	53,07	56,11	56,12	58,11	58,49	Y = 53,81 + 0,05X	NS	0,96

¹ 100U= 100% uréia e 0% Cloreto de amônia; 75U/25C= 75% uréia e 25% cloreto de amônia; 50U/50C= 50% uréia e 50% cloreto de amônia, 25U/75C= 25% uréia e 75% cloreto de amônia; 100C= 0% uréia e 100% cloreto de amônia.

² NS: Não significativo (P>0,05).

Apesar do aumento da digestibilidade aparente do FDN com a inclusão do cloreto de amônia, em geral, a digestibilidade do FDN foi baixa, o que pode ser decorrente da inclusão de aproximadamente 60% de bagaço de cana mais silagem de cana na dieta, pois estes volumosos apresentam alto conteúdo de FDN com baixa digestibilidade. Sarmiento et al. (1999) num estudo sobre o tratamento de bagaço de cana com uréia, relataram que quando este não foi tratado com uréia a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) foi de 32,9%.

A ingestão de CNF não foi influenciada pelos tratamentos, apesar de que numericamente, os menores valores de ingestão de CNF foram obtidos para os tratamentos com maior inclusão de cloreto de amônia na dieta. O mesmo aconteceu com a digestibilidade aparente dos CNF.

Tanto para o NDT calculado por Weiss (1999) como para o observado (Sniffen et al., 1992) houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre as dietas, ou seja, quanto maior o nível de substituição de uréia por cloreto de amônia, maiores foram os valores de NDT. Quando o NDT foi calculado por Weiss (1999) a diferença entre o tratamento 100 U e o tratamento 100 C foi de apenas quatro décimos, passando de 68,37% para 68,41% para os dois tratamentos respectivamente. Entretanto, para o NDT observado houve um aumento linear ($P < 0,05$) de 5,42 pontos percentuais, aumentando de 53,07% com 100U para 58,49% com 100C. Entretanto, comparando o NDT observado segundo Sniffen et al., (1992) e calculado segundo Weiss (1999) é evidenciado uma marcada diferença entre eles variando de 9,92 a 15,3 pontos percentuais, isto demonstra que para as condições destes tipos de experimentos e utilizando estes tipos de dietas as estimativas de Weiss (1999) não são precisas.

As regressões obtidas para o pH e para as concentrações de amônia no rúmen nos diferentes níveis de substituição de uréia por cloreto de amônia, são mostradas na Tabela 4.

Houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos, para o pH do líquido ruminal observando-se um comportamento linear decrescente em relação à inclusão de cloreto de amônia na dieta. Todos os valores de pH mantiveram-se acima de 6,2 considerado por Orskov (1988) como limite mínimo para adequada fermentação da fibra, por não prejudicarem os microorganismos celulolíticos. Os valores de pH do presente experimento foram semelhantes aos observados por Pereira et al. (2007) que trabalhando com novilhos mestiços Holandês × Zebu, recebendo dietas com mesmas proporções volumoso:concentrado deste experimento (60:40) e usando 0,80% de uréia, obtiveram em média um pH no líquido ruminal de 6,2.

Tabela 4 – Médias, equações de regressão, coeficientes de determinação (r^2) e erro padrão (EP) para o pH e nitrogênio amoniacal (N-NH₃) do líquido ruminal

	TRATAMENTOS ¹					REGRESSÃO	r^2	EP
	100U	75U/25C	50U/50C	25U/75C	100C			
pH	6,49	6,38	6,34	6,25	6,20	Y= 6,48 – 0,003	97,9	0,05
N-NH ₃ (mg/dL)	13,10	12,14	13,71	12,82	12,64	Y= 12,88	NS ²	0,26

¹ 100U= 100% uréia e 0% cloreto de amônia; 75U/25C= 75% uréia e 25% cloreto de amônia; 50U/50C= 50% uréia e 50% cloreto de amônia, 25U/75C= 25% uréia e 75% cloreto de amônia; 100C= 0% uréia e 100% cloreto de amônia.

² NS: Não significativo (P>0,05).

Os valores mínimos de pH no líquido ruminal em função do tempo pós-alimentação (Figura 1) foram: 6,30; 6,20; 6,18; 6,05 e 6,05, para o 100U, 75U/25C, 50U/50C, 25U/75C e 100C, respectivamente, sendo estes valores encontrados 4 horas após alimentação.

Com relação às concentrações médias de amônia (mg/dL de líquido ruminal) são (Tabela 4) não houve diferença (P >0,05) entre os tratamentos, observando-se valores entre 12,6 e 13,7 mg de N-NH₃/100 mL de líquido ruminal.

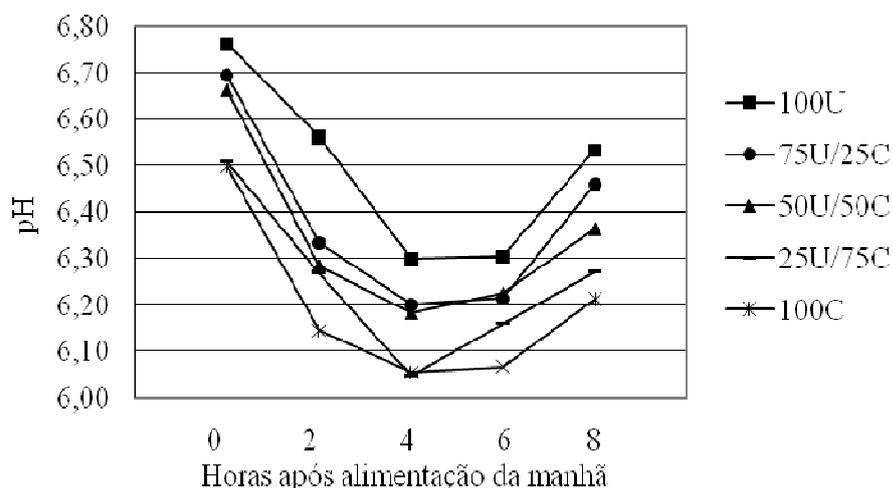


Figura 1 – Variação no pH ruminal de bovinos recebendo dietas com diferentes níveis de substituição da uréia por cloreto de amônia.

As concentrações de amônia no rúmen com relação aos quatro horários de coleta, mantiveram-se entre 7,37 a 25,96 mg/dL de líquido ruminal, sendo que os tratamentos que apresentam maiores proporções de uréia apresentaram um pico maior de amônia ruminal (Figura 2).

Os maiores valores de amônia foram encontrados duas horas após a alimentação da manhã (10:30h) e os menores valores imediatamente antes da alimentação da tarde(16:30h). Estes dados confirmam a grande degradação de proteínas, peptídeos, aminoácidos e outras substâncias nitrogenadas que promovem a liberação de amônia para o líquido ruminal 2 horas após a alimentação (Lana et al., 1998). Estes dados concordam com Zanetti et al. (1995) e Coneglian (2006) que trabalhando com bubalinos e bovinos, respectivamente, também encontraram o pico de amônia duas horas após a alimentação.

Verificou-se que para todos os tratamentos, os valores médios de concentração de amônia ruminal mantiveram-se em níveis superiores a 5 mg/dL considerados como mínimos para adequada fermentação ruminal da parede celular (Sater & Slyter, 1974), e também ficaram acima dos valores mínimos propostos por Hoover (1986) que é de 3,3 mg/dL.

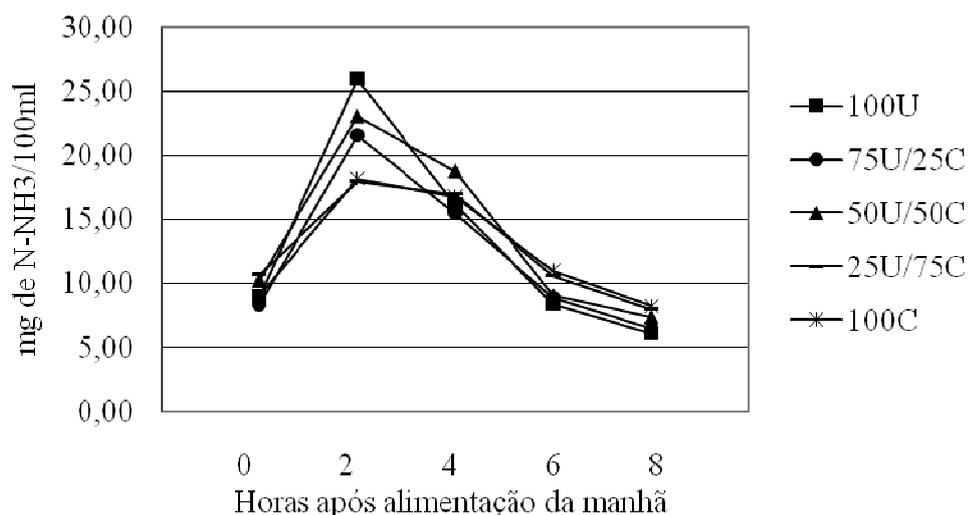


Figura 2 – Variação na concentração de amônia ruminal de bovinos recebendo dietas com diferentes níveis de substituição da uréia por cloreto de amônia.

As curvas construídas com os valores de N-NH₃ (Figura 2) mostram que nos tratamentos com maior percentagem de cloreto de amônia o pico de amônia é mais suave, enquanto que nesses mesmos tratamentos a concentração de amônia 6 e 8 horas após a alimentação encontra-se com valores mais altos que para os outros tratamentos. Esta resposta a inclusão de cloreto de amônia na dieta pode estar mostrando uma liberação mais estável de amônia com o cloreto mas, no entanto, mais estudos são necessários para esclarecer este fato. Segundo Bartley & Deyoe (1975) uma fonte de nitrogênio não-protéico com liberação lenta de amônia teria as vantagens de aumentar a disponibilidade da mesma para síntese microbiana e reduzir problemas com toxidez.

A rápida hidrólise da uréia no rúmen freqüentemente leva a um quadro de intoxicação, o que pode limitar a utilização de uréia em muitas situações (Currier et al., 2004; Males et al., 1979). Observa-se na Tabela 6, os dados referentes as médias de pH na urina, volume urinário, excreção de alantoína e ácido úrico, purinas totais, purinas absorvidas, compostos nitrogenados microbianos e eficiência de síntese microbiana.

Houve diferença ($P < 0,05$) para pH na urina, observando-se um efeito quadrático entre os tratamentos. Em todos os tratamentos com inclusão de cloreto de amônia os valores para pH na urina ficaram abaixo de 6. Os dados deste experimento concordam com os dados observados por Wang & Beede (1992) os quais trabalhando com vacas Jersey suplementadas com 98 g de cloreto de amônia obtiveram um valor de pH de 5,93. Schonewille et al. (1999) trabalhando com vacas leiteiras suplementadas com 144 g/dia de cloreto de amônia, observaram valores de pH na urina ainda menores, de 5,73.

Analisando os dados deste experimento e aqueles obtidos por outros autores, que têm relatado que o cloreto de amônia provoca uma redução do pH da urina (Horst & Jorgensen., 1973; Wang & Beede., 1992) os dados são controvertidos, já que no presente experimento, a inclusão de cloreto de amônia provocou um comportamento quadrático e não uma redução linear como era de se esperar.

Com relação ao volume urinário, houve diferença ($P < 0,05$) entre os tratamentos, ocorrendo um aumento linear à medida que o cloreto de amônia foi incluído na dieta. Os volumes urinários obtidos foram 8,35; 7,67; 12,17; 13,11; e 13,22 L/dia, para os tratamentos 100U, 75U/25C, 50U/50C, 25U/75C e 100C, respectivamente.

Tabela 5 – Médias, equações de regressão, coeficientes de determinação (r^2) e erro padrão (EP) para o pH da urina (pH), volume urinário (VUR), excreção diária de alantoína (ALA), ácido úrico (AcU), derivados de purinas (DP), purinas absorvidas (Pabs), estimativa de síntese de compostos nitrogenados microbianos (Nmic), eficiência de síntese de proteína microbiana (Efi) e N-uréia plasmática (NUP)

	TRATAMENTOS ¹					REGRESSÃO	r^2	EP
	100U	75U/25C	50U/50C	25U/75C	100C			
pH	6,89	5,86	5,83	5,92	5,94	$\hat{Y} = 6,77 - 0,03X + 0,0002X^2$	84,8	0,2
VUR (L/dia)	8,35	7,67	12,17	13,11	13,22	$\hat{Y} = 7,87 + 0,06X$	79,9	1,2
ALA (mmol/dia)	120,27	112,88	137,42	108,57	108,40	$\hat{Y} = 117,5$	NS ²	5,4
AcU (mmol/dia)	8,24	7,91	10,71	12,66	11,39	$\hat{Y} = 7,97 + 0,04X$	72,5	0,9
DP (mmol/dia)	128,51	120,79	148,13	121,23	119,79	$\hat{Y} = 127,69$	NS	5,3
Pabs (mmol/dia)	106,71	96,73	128,89	98,08	96,45	$\hat{Y} = 105,37$	NS	6,2
Nmic (g/dia)	77,58	70,32	93,70	71,30	70,12	$\hat{Y} = 76,6$	NS	4,5
Efi (g PBmic/ kg NDT)	102,84	86,76	117,24	93,54	97,32	$\hat{Y} = 99,54$	NS	5,1
NUP (mg/dL)	16,30	16,46	14,34	13,46	14,60	$Y = 16,31 - 0,026X$	60,3	1,25

¹ 100U= 100% uréia e 0% cloreto de amônia; 75U/25C= 75% uréia e 25% cloreto de amônia; 50U/50C= 50% uréia e 50% cloreto de amônia, 25U/75C= 25% uréia e 75% cloreto de amônia; 100C= 0% uréia e 100% cloreto de amônia.

² NS: Não significativo ($P > 0,05$).

Os valores de volume urinário deste experimento diferem dos valores observados por Chizotti et al. (2006) os quais trabalhando com novilhas com peso médio de 453 Kg obtiveram valores de 17,47 L/dia, assim como também dos valores observados por Pina et al. (2006) que trabalhando com vacas leiteiras suplementadas com 1,5% de uréia na dieta, observaram valores de 14,26 L/dia.

Observa-se que os tratamentos que apresentaram menor volume urinário foram aqueles com maior inclusão de uréia na dieta, nesse sentido os valores obtidos neste experimento diferem dos valores observados por Silva et al. (2001b) que trabalhando com níveis de uréia na dieta (0; 0,7; 1,4; e 2,1%), encontraram maiores valores para os tratamentos com maior inclusão de uréia, variando de 10,65 L/dia a 12,67 L/dia para a inclusão de 0,7 e 2,1% de uréia na dieta, respectivamente. No entanto, é importante ressaltar que o nível de inclusão mais alto no presente experimento foi de 0,8%.

Os valores de alantoína não foram influenciados ($P > 0,05$) pelos diferentes níveis de substituição de uréia por cloreto de amônia na dieta, e o valor médio foi 117,5 mmol/dia. Valores mais altos de alantoína (216,66 a 303,89 mmol/dia) foram relatados

por Oliveira et al. (2001b) em estudo com vacas leiteiras suplementadas com diferentes níveis de NÑP. Os valores observados neste experimento também foram mais baixos do que os observados por Magalhães et al. (2005) que estudando diferentes níveis de uréia em dietas de novilhos encontraram valores de alantoína de 154,7; 170,7; 172,7; e 173,4 para os níveis de 0; 0,65; 1,30; e 1,95% de uréia. Os valores de alantoína deste experimento foram próximos aos reportados por Rennó et al. (2000) que avaliou níveis crescentes de uréia (0; 0,65; 1,30; e 1,95% na base da MS) em dieta de novilhos de quatro grupos genéticos e verificou uma média para alantoína de 112 mmol/dia.

Com relação à excreção de ácido úrico houve diferença ($P < 0,05$) entre os tratamentos, ocorrendo aumento linear com a inclusão de cloreto de amônia na dieta. Chen & Gomes (1992) consideram que a proporção de ácido úrico nos derivados de purinas (DP) varia de 15 a 20% e são muito constantes no mesmo animal, mas variam entre animais. Entretanto, neste experimento essas proporções ficaram entre 6,4 a 10,4%, essas mesmas proporções de ácido úrico nos DP observadas neste experimento estão próximas das proporções observadas por Chizotti et al. (2006) que em média foram de 8,25% de ácido úrico nos DP.

A excreção de purinas totais não foi influenciada ($P > 0,05$) pelo nível de inclusão de cloreto de amônia na dieta, apresentando valor máximo de 148,13 mmol/dia para o tratamento 50U/50C, e valor mínimo de 119,79 mmol/dia para o tratamento 100C.

Com relação às purinas absorvidas (Pabs) estimativa de síntese de compostos nitrogenados microbianos (Nmic) e eficiência de síntese de proteína microbiana (Efi), não houve diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos.

As médias para purinas microbianas absorvidas variaram de 96,45 a 128,89 mmol/dia, as médias de fluxo de N microbiano variaram de 70,12 a 93,70 g/dia e as médias para eficiência microbiana variaram de 97,3 a 117,2 g PBmic/kg NDT ingerido. Não houve efeito dos tratamentos sobre a eficiência de síntese de proteína microbiana.

Os valores médios para eficiência de síntese de proteína microbiana observados neste experimento, 99,5 g PBmic/kg de NDT são menores do que os observados por Oliveira et al (2001b) e Rennó et al (2003). No entanto, são próximos aos observados por Moraes (2003) que trabalhando com novilhos mestiços recebendo níveis crescentes de uréia nos suplementos (0; 1,2; 2,4; 3,6% na base da matéria natural) obteve valor médio de 104 g de PBmic/kg de NDT. A síntese de proteína microbiana depende da disponibilidade de carboidratos e de N no rúmen (Clark et al., 1992; NRC, 2001; Magalhães et al, 2005). Dessa maneira, para a maximização do crescimento microbiano

deve existir uma sincronização entre a disponibilidade de energia fermentável e o N degradável no rúmen. A menor eficiência microbiana neste experimento pode ser explicada em parte pela baixa concentração de carboidratos não fibrosos nas dietas que foi em média 25%, em contraste com o teor de FDN que foi de 56%.

A concentração de NUP foi influenciada pela inclusão de cloreto de amônia na dieta, ocorrendo uma queda linear ($P < 0,05$). Os valores de NUP variaram de 13,5 a 16,5 mg/dL. Segundo Valadares et al. (1997) a concentração de NUP resultante de máxima eficiência microbiana varia de 13,5 a 15 mg/dL, sendo que acima desses valores estaria ocorrendo uma perda de proteína no processo de fermentação no rúmen. Comparando aos dados obtidos por Oliveira et al (2007) os quais trabalharam com dietas contendo 0,6% de uréia na base da MS, e obtiveram valor médio de 11,3 mg/dL, os valores observados para NUP foram mais altos.

Segundo Oliveira et al. (2001b) o aumento das concentrações de NUP em dietas isoprotéicas, pode estar mostrando uma menor eficiência da utilização de amônia no rúmen, fato que aconteceu com os níveis mais elevados de uréia. Considerando este resultado associado ao comportamento das curvas de concentração de amônia no rúmen pode-se sugerir que o cloreto permitiu uma utilização mais eficiente do N no rúmen. Tal fato poderia ser melhor compreendido em dietas com alto teor de carboidratos não-fibrosos.

Conclusões

A substituição da uréia pelo cloreto de amônia em dietas de bovinos diminuiu o consumo dos nutrientes, entretanto melhorou a digestibilidade dos mesmos. Os valores de pH ruminal foram mais baixos nas dietas com maior inclusão de cloreto de amônia, mas a concentração de amônia ruminal não alterou. A síntese de proteína microbiana não foi influenciada pela inclusão do cloreto de amônia nas dietas, mas os valores de NUP foram menores nas dietas com maior inclusão de cloreto de amônia. O cloreto de amônia permitiu uma utilização mais eficiente do N, e assim, pode ser utilizado como fonte de NNP para bovinos. Todavia deve-se considerar a proporção a ser usada nas dietas de forma a não prejudicar o consumo. Mais pesquisas devem ser feitas nesta área utilizando dietas com maior teor de CNF e especialmente em vacas leiteiras e ovinos, onde poderia ter maior relevância.

Literatura Citada

- AOAC-ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15. ed. Arlington: AOAC, 1990. 1298 p.
- BARTLEY, E.E.; DEYOE, C.W. Starea as a protein replacer for ruminants - review of 10 years of research. **Feedstuffs**, v.47, p.42-44, 1975.
- BELASCO, I. J. Comparison of urea and protein meals as nitrogen sources for rumen microorganisms: urea utilization and cellulose digestion. **Journal Animal Science**. v.13, p.739, 1954.
- 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**. Aberdeen: Rowett Research Institute/ International Feed Research Unit, 1992. 21p. (Occasional publication).
- CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D.; et al. Consumo, digestibilidade e excreção de uréia e derivados de purinas em novilhas de diferentes pesos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1813-1821, 2006 (supl.)
- COCHRAN, R.C.; ADAMS, D.C.; WALLACE, J.D. et al. Predicting digestibility of different diets with internal markers: evaluation of four potential markers. **Journal of Animal Science**, v.63, n.5, p.1476-1483, 1986.
- CONEGLIAN, S.M. **Diferentes proporções de fosfato bicálcico e fosfato de rocha em dieta de bovinos**. Maringá: Universidade estadual de Maringá, 2006. 65p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, 2006.
- 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 Dairy Science**, v.60, p. 1725-1733, 1977.
- CLARK, J.H.; KLUSMEYER, T.H.; CAMERON, M.R. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.8, p.2304-2323, 1992.
- CURRIER, T. A. BOHNERT, D. W. FALCK, S. J. BARTLE, S. J. Daily and alternate day supplementation of urea or biuret to ruminants consuming low-quality forage: I. Effects on cow performance and the efficiency of nitrogen use in wethers. **Journal Animal Science**. v.82, p.1508-1517, 2004.
- FENNER, H. Method for determining total volatile bases in rumen fluid by steam distillation. **Journal of Dairy Science**, v.48, n.2, 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 Agriculture Science**, v.109, n.1, p.7-12, 1987.

- HOOVER, W.H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal Dairy Science**, v.69, p.2755-2766, 1986.
- HORST, R.L.; JORGENSEN, N.A. Effect of ammonium chloride on nitrogen and mineral balance in lactating and nonlactating goats. **Journal Dairy Science**, v.57, p.683-688, 1974.
- KITAMURA, S.S. **Intoxicação por amônia em bovinos e ratos: O desempenho renal na desintoxicação e o emprego de tratamentos alternativos**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2002. 92p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade de São Paulo, 2002.
- LANA, G.R.Q.; SILVA, D.J.; SILVA, M.A. et al. Desempenho comparativo de marcas comerciais e de cruzamentos de diferentes linhagens de frangos de corte produzidos na UFV, em diferentes níveis de energia. 1. Consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.24, n.5, p.759-767, 1998.
- LEAL, T.L.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Variações diárias nas excreções de creatinina e derivados de purinas em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.896-904, 2007.
- MAGALHÃES, K.A.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Produção de proteína microbiana, concentração plasmática de uréia e excreções de uréia em novilhos alimentados com diferentes níveis de uréia ou casca de algodão. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.4, p.1400-1407, 2005.
- MALES, J.R.; MUNSINGER, R.A.; JOHNSON R.R. In vitro and in vivo ammonia release from "slowrelease" urea supplements. **Journal of Animal Science**, v.48, p.887, 1979.
- MORAES, E.H.B.K. **Suplementos múltiplos para recria e terminação de novilhos mestiços em pastejo durante os períodos de seca e transição seca-águas**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 70p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2003.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL-NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**, Washington, D.C.: National Academy Press, 1996. 242p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington, D.C. National Academy Press, 2001. 381p.
- OETZEL, G.R.; OLSON, J.D.; CURTIS, C.R. et al. Ammonium chloride and ammonium sulfate for prevention of parturient paresis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.71, n.12, p.3302-3309, 1988.

- OLIVEIRA, A.S.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Consumo, digestibilidade, produção e composição do leite em vacas alimentadas com quatro níveis de compostos nitrogenados não protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.4, p.1358-1366, 2001a.
- OLIVEIRA, A.S.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Produção de proteína microbiana e estimativas das excreções de derivados de purinas e de uréia em vacas lactantes alimentadas com rações isoprotéicas contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não-protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1621-1629, 2001b.
- 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, n.1, p.205-215, 2007.
- ORSKOV, E. R. **Nutrición proteica de los ruminantes**. Zaragoza: Acribia, 1988.178 p.
- PEREIRA, O.G.; SOUZA, V.G.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Consumo, digestibilidade e parâmetros ruminais em bovinos de corte alimentados com dietas contendo silagem de sorgo e pré-secado de capim-tifton 85. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.6, p.2143-2151, 2007 (supl.).
- PINA, D.S.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Síntese de proteína microbiana e concentrações de uréia em vacas alimentadas com diferentes fontes de proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p. 1552-1559, 2006.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES, R.F.D.; LEÃO, M.I. et al. Estimativa da Produção de Proteína pelos Derivados de Purinas na Urina em Novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.1223-1234, 2000.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Níveis de proteína na ração de novilhos de quatro grupos genéticos: estimativa da produção de proteína microbiana por intermédio dos derivados de purinas na urina. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: 2003. CD-ROM. Nutrição de ruminantes.
- SARMENTO, P.; GARCIA, R.; PIRES, A.J.V.; NASCIMENTO, A.S. Tratamento do bagaço de cana de açúcar com uréia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, p.1203-1208, 1999.
- SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial production in vitro. **Britanic Journal Nutrition**, v.32, n.2, p.199-208, 1974.
- SCHONEWILLE, J.T.; VAN'T KLOOSTER, A.T.; WOUTERSE, H.; BEYNEN, A.C. Hipocalcemia induced by intravenous Administration of disodium ethylenediaminetetraacetate and its effects on excretion of calcium in urine of cows fed a high chloride diet. **Journal of Dairy Science**, v.82 p.1317-1324, 1999.

- SILVA, R.M.N.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Uréia para vacas em lactação. I. Consumo, digestibilidade, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1639-1649, 2001a.
- SILVA, R.M.N.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Uréia para vacas em lactação. 2. Estimativas do volume urinário, da produção microbiana e da excreção de uréia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.6, p.1948-1957, 2001b.
- SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal Animal Science**, v.70, n.12, p.3562-3577, 1992.
- STATISTICAL ANALYSES SYSTEM - SAS. **SAS user's guide**: Statistics. 5.ed. Cary: 2001. (CD-ROM).
- VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C.; GONÇALVES, L.C. et al. Níveis de proteína em dietas de bovinos. Concentrações de amônia ruminal e uréia plasmática e excreções de uréia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1270-1278, 1997.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.70, n.10, p.3583-3597, 1991
- 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 Agriculture Science**, v.114, n.3, p.243-248, 1990.
- VIEIRA, P.F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídeos em rações para ruminantes**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1980. 98p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1980.
- WANG, C.; BEEDE, D.K. Effects of ammonium chloride and sulfate on acid-base status and calcium metabolism of dry Jersey cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.820-828, 1992.
- ZANETTI, M.A.; NEUNHAUS, L.E.D.; SCHALCH, E.D. et al. Efeito da suplementação de selênio e vitamina E em bovinos leiteiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, p.405-408, 1995.

IV - CONCLUSÕES GERAIS

A substituição da uréia pelo cloreto de amônia em dietas de bovinos diminuiu o consumo dos nutrientes, entretanto melhorou a digestibilidade dos mesmos. O pH ruminal foi menor nas dietas com maior inclusão de cloreto de amônia, enquanto a concentração ruminal de amônia não foi influenciada. A excreção urinária de derivados de purinas, assim como a síntese de proteína microbiana não foram influenciados pela inclusão do cloreto de amônia nas dietas. Todavia observaram-se maiores valores de nitrogênio uréico plasmático nas dietas com maior inclusão de cloreto de amônia. Os resultados obtidos mostram que o cloreto de amônia pode ser utilizado como uma fonte de NNP em dietas de bovinos. Todavia deve-se considerar a proporção a ser usada para não prejudicar o consumo. Pode-se sugerir que o cloreto permitiu uma utilização mais eficiente do N no rúmen e tal fato poderia ser mais bem compreendido em dietas com alto teor de carboidratos não fibrosos.