

## **PERFIL METABÓLICO SANGUÍNEO DE VACAS LEITEIRAS ALIMENTADAS COM DIFERENTES NÍVEIS DE UREIA EXTRUSADA EM SUBSTITUIÇÃO AO FARELO DE SOJA.**

Giovana Albuquerque dos Santos Nantes<sup>1</sup>, Noemila Debora Kozerski<sup>2</sup>, Gabriella Jorgetti de Moraes<sup>2</sup>, Marcus Vinícius Garcia Niwa<sup>2</sup>, Debora Gabriela da Mata<sup>3</sup>, Eduardo Souza Leal<sup>4</sup>, Willian de Assis Theodoro<sup>5</sup>, Alexandre Menezes Dias<sup>6</sup>, Geraldo Tadeu dos Santos<sup>6</sup>, Luís Carlos Vinhas Ítavo<sup>7</sup>

1. Graduação em Zootecnia, bolsista UFMS, FAMEZ-UFMS

2. Doutorando em Ciência Animal FAMEZ-UFMS

3. Mestrando em Ciência Animal, FAMEZ-UFMS

4. Doutor em Ciência Animal

5. Graduação em Zootecnia, bolsista PET, FAMEZ-UFMS

6. Professor da FAMEZ-UFMS e do Programa de Pós Graduação em Ciência Animal

7. Professor da FAMEZ-UFMS e Programa de Pós Graduação em Ciência Animal/Orientador

### **Resumo**

Os parâmetros sanguíneos em vacas leiteiras podem ser usados para estimar o processo de demanda metabólica a novas situações fisiológicas ou alimentares. Avaliou-se a substituição da proteína verdadeira do farelo de soja no concentrado por fonte de nitrogênio não proteico (NNP) e seus efeitos sobre parâmetros sanguíneos de vacas leiteiras.

Vinte vacas em lactação foram distribuídas em cinco tratamentos e após as ordenhas receberam concentrado com diferentes níveis de ureia extrusada em substituição ao farelo de soja nas proporções 0, 0,81, 1,66, 2,55 e 3,47% na matéria seca (MS). O sangue foi colhido pré-prandial e quatro horas após a alimentação. Os metabólitos glicose, albumina, creatinina, triglicerídeos e ureia foram analisados por kits comerciais.

A glicose apresentou efeito ( $P < 0,05$ ) no período pós-prandial com redução em relação ao período pré-prandial. Os níveis de ureia plasmática apresentaram efeito nos dois horários de coleta, em alguns níveis ficando acima do recomendado.

**Autorização legal:** Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA/UFMS (Protocolo nº802/2016).

**Palavras-chave:** Leite; Proteína; Sangue.

**Apoio financeiro:** Capes e CNPq.

### **Introdução**

Alternativas como a substituição de fonte de alimentos contendo proteína verdadeira, como o farelo de soja, por alimentos com maior teor de nitrogênio não proteico (NNP), como a ureia, pode melhorar a efetividade financeira, inclusão de mais alimentos energéticos e forragens, já que os ruminantes têm capacidade de sintetizar NNP em proteína microbiana de alto valor biológico em sincronia com carboidratos disponíveis. A ureia extrusada é fisicamente envolta por uma camada de amido com a finalidade de reduzir a velocidade de liberação do N no rúmen, sendo possível a associação com energia proveniente dos carboidratos disponíveis no rúmen.

Como ferramenta de avaliação das dietas, o perfil metabólico sanguíneo pode ser utilizado como indicador da saúde da vaca leiteira e desequilíbrios metabólicos, o que pode possibilitar o balanceamento da dieta e a intensificação da produtividade, além de serem utilizados para avaliar o processo de adaptação do metabolismo as dietas e alterações fisiológicas (CALIXTO et al., 2010).

As concentrações sanguíneas de glicose e triglicerídeos são indicadores do metabolismo energético e albumina, creatinina e nitrogênio ureico no soro (NUS), do metabolismo proteico.

A utilização do NUS é um indicador sensível e imediato na ingestão da proteína e pode ser indicador da eficácia do uso das proteínas pela forte correlação do conteúdo de uréia no sangue (GONZÁLES, 2009).

O perfil metabólico pode ser utilizado como indicador proteico devido às respostas imediatas do metabolismo proteico. No entanto, aspectos de manejo, saúde e estado fisiológico dos animais podem determinar alterações provenientes de outras rotas metabólicas, como energética. Quando estes indicadores encontram-se fora intervalo de referência deve-se analisar a possibilidade de correções para evitar reduções na produção, fertilidade e rentabilidade (CONTRERAS, 2000).

O objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos da substituição do farelo de soja pela ureia extrusada em diferentes níveis através dos parâmetros sanguíneos.

### **Metodologia**

Vinte vacas em lactação, com produção média de 13 kg/dia de leite foram distribuídas em delineamento

inteiramente casualizado em cinco tratamentos. Após as ordenhas, separadas em baias por tratamento, receberam o concentrado (1kg/3 kg de leite produzido). Os tratamentos consistiram da substituição do farelo de soja por ureia extrusada nas seguintes proporções 0, 0,81, 1,66, 2,55 e 3,47% na MS como apresentado na Tabela 1. A ureia extrusada utilizada foi a Amiréia-200® (Pajoara Ind. e Comércio Ltda. Campo Grande-MS, Brasil). O consumo de proteína foi de 1,013 kg/dia e a porcentagem de proteína nos concentrados foi de 19,86, 20,27, 20,70, 21,15 e 21,62% MS para as substituições 0, 125, 250, 375, 500 g/kg, respectivamente. Os animais receberam silagem (5,88 kg MS) e em seguida eram mantidos em sistema de pastejo rotacionado de *Cynodon* cv. Tifton.

Tabela 1 – Composição do concentrado experimental com base na matéria seca (kg/dia de MS) e a porcentagem dos ingredientes (% na MS).

Ingredientes	Níveis de substituição (g/kg)				
	0	125	250	375	500
Milho	3,78	3,78	3,78	3,78	3,78
Soja	1,15	1,01	0,86	0,72	0,57
Amiréia-200®	0,000	0,04	0,08	0,12	0,16
Mineral	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
CMS Concentrado	5,10	4,99	4,89	4,78	4,68
Milho	74,29	75,84	77,45	79,14	80,89
Soja	22,70	20,27	17,75	15,11	12,35
Amiréia-200®	0,00	0,81	1,66	2,55	3,47
Mineral	3,0	3,06	3,12	3,19	3,26
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

Para determinação dos parâmetros sanguíneos foram coletadas amostras de sangue na hora zero (horário pré-prandial) e quatro horas após alimentação da manhã (pós-prandial). Foram realizadas punção da veia coccígea (inserção da cauda) com tubos a vácuo BD SST II Advance® contendo ativador de coágulo e gel separador, e tubos BD Vacutainer® Fluoreto/EDTA como inibidor glicolítico e o anticoagulante EDTA. Posteriormente, os tubos de sangue foram centrifugados por 15 minutos a 3000 rpm x g. O soro e o plasma foram armazenados em micro tubo Eppendorf a -10 ° C para posterior avaliação no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UFMS. Foram realizadas análises de albumina (kit ref. 04657357), creatinina (kit ref. 10886874), ureia (kit ref. 11200666), triglicerídeos (kit ref. 04657594) no soro sanguíneo e glicose (kit ref. 04657527) no plasma sanguíneo. A conversão dos valores de ureia em NUS foi realizada pela multiplicação dos valores obtidos pelo fator 0,4667.

Os resultados foram submetidos a análises de regressão usando o SAS (SAS, 2002). Adotou-se a significância de 5% e tendência a 10%.

## Resultados e Discussão

Os resultados de glicose (mg/dL), albumina (mg/dL), creatinina (mg/dL), triglicerídeos (mg/dL) e nitrogênio ureico no soro (mg/dL) colhidos em período pré-prandial e pós-prandial em decorrência dos níveis de substituição são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2- Consumo de matéria seca (CMS), produção de leite (PL) e parâmetros sanguíneos de vacas leiteiras alimentadas com diferentes níveis de ureia extrusada em substituição ao farelo de soja.

	Níveis de substituição (g/kg)					EPM	P	
	0	125	250	375	500		Linear	Quadrático
CMS (kg/dia)	12,01	11,99	11,68	11,94	11,69	0,034	0,0031	0,6487
PL (kg/dia)	11,75	14,34	13,31	12,46	11,68	0,815	0,7062	0,2928
Colheita Pré-prandial								
GLI (mg/dL)	73,44	69,11	73,45	71,74	69,28	0,670	0,2125	0,1924
ALB (g/L)	39,37	39,02	38,58	38,71	41,56	0,995	0,1847	0,0616
CREAT (mg/dL)	1,01	0,95	0,87	0,98	0,86	0,024	0,1869	0,7600
TRIGL (mg/dL)	14,52	9,56	13,74	11,29	15,16	0,389	0,2403	0,4986
NUS <sup>1</sup> (mg/dL)	14,61	12,95	14,21	15,98	16,88	1,188	0,0491	0,2059
Colheita Pós-prandial								
GLI <sup>2</sup> (mg/dL)	62,03	60,55	65,87	65,86	66,10	0,864	0,0258	0,7906
ALB <sup>3</sup> (g/L)	35,44	38,37	35,46	36,08	40,69	0,486	0,0158	0,0846
CREAT (mg/dL)	0,91	1,06	0,92	1,07	0,96	0,029	0,5937	0,2858
TRIGL <sup>4</sup> (mg/dL)	11,74	10,06	12,15	11,54	13,93	0,325	0,0104	0,0432
NUS <sup>5</sup> (mg/dL)	14,62	15,48	17,31	19,24	21,55	1,188	0,0001	0,5159

<sup>1</sup>Y<sub>Nus</sub> = 13,4137514 + 0,00597376.AM <sup>2</sup>Y<sub>Glicose</sub> = 59,871 + 0,01337.AM <sup>3</sup>Y<sub>Albumina</sub> = 35,5667 + 0,00656667.AM <sup>4</sup>Y<sub>Triglicerídeos</sub> = 10,7081 + 0,0047035.AM <sup>5</sup>Y<sub>Nus</sub> = 14,1233221 + 0,01408813.AM

A colheita pré-prandial que corresponde a coleta zero horas, apresentou efeito ( $P<0,05$ ) linear crescente para para o NUS. Na colheita quatro horas após a alimentação, efeitos ( $P<0,05$ ) lineares crescentes da substituição foram encontrados para os parâmetros glicose, albumina, triglicerídeos e NUS.

Os níveis de glicemia variaram entre 73,44, 69,11, 73,45, 71,74, 69,28 mg/dL na colheita pré prandial e 62,03, 60,55, 65,87, 65,86, 66,10 mg/dL após a alimentação. A variação de glicemia para vacas é de 45 a 75 mg/dL (KANEKO et al., 2008), indicando que os níveis encontrados estão adequados. O efeito da glicose observado após a alimentação, mesmo que menor quando comparado aos níveis pré-prandiais demonstraram que os tratamentos de maior substituição proporcionaram um aumento dos níveis de glicose ( $P<0,05$ ). A redução dos níveis de glicose observadas na colheita pós-prandial, nos níveis de substituição mais elevados, podem ser explicadas pelo excesso de amônia ( $\text{NH}_3$ ), demonstrado no parâmetro NUS, que pode afetar os valores de energia disponível para o animal, pela reação do ácido glutâmico com  $\text{NH}_3$  para formar a glutamina. A fonte imediata de ácido glutâmico é o  $\alpha$ -cetogluturato, um composto intermediário do ciclo do ácido cítrico, o qual é essencial para a formação de energia no animal. Se a demanda de  $\alpha$ -cetogluturato é alta em função da grande quantidade de  $\text{NH}_3$  circulante, o ciclo do ácido cítrico pode ficar comprometido e consequentemente, a gliconeogênese comprometida (GARCIA-BOJALIL et al., 1998). Em ruminantes a glicose é originada no fígado a partir de glicerol, lactato, proteínas e propionato (REECE, 2006). Dependendo da fase produtiva em que as vacas se encontram, a glândula mamária demanda elevadas quantidades extras de glicose para a síntese de lactose do leite, proporcionando uma diminuição da glicose sanguínea, o que não ocorreu nesse estudo, visto que os animais encontravam-se em terço médio de lactação. Broderick et al. (2009) não encontraram diferenças na concentração de glicose plasmática quando adicionaram ureia na dieta.

A albumina é a proteína mais abundante no plasma e é indicadora do metabolismo proteico de longo prazo, onde as mudanças ocorrem lentamente. Os efeitos encontrados na colheita pós-prandial podem indicar que os níveis mais elevados não indicam deficiência proteica (GONZÁLES e SCHEFFER, 2002) e os animais não encontravam-se em pico de lactação, quando tendem a reduzir o teor de albumina no sangue, visto que a demanda de aminoácidos para a síntese do leite reduz a síntese das demais proteínas (CONTRERAS, 2000).

Os valores de referência de creatinina são de 1,0 a 2,0 mg/dL (KANEKO et al., 2008). A síntese de creatinina em animais saudáveis é constante, depende da massa muscular e da proteína ingerida, as quais influenciam os níveis no sangue e permitem avaliar o bom funcionamento renal (LAMP et al., 2015). Por isso, os níveis de creatinina plasmática refletem a taxa de filtração renal, de forma que níveis altos de creatinina indicam uma deficiência na funcionalidade renal (GONZÁLES e SCHEFFER, 2002).

O nível considerado normal de triglicerídeos sanguíneos é de 18 mg/dL (BYERS; SCHELLING, 1993). Os baixos valores de triglicerídeos, podem estar relacionados aos baixos teores de gordura na dieta ou o período de lactação que os animais se encontram, não estando em balanço energético negativo. Vacas com baixa lipomobilização, os valores de triglicerídeos encontram-se inferiores a 10,6 mg/dL (GONZÁLEZ, 2009). A variação linear ( $P<0,05$ ) ao longo do tempo pós prandial pode estar relacionada a diferença na taxa de degradação e absorção de seus precursores na dieta, pois sua concentração sanguínea é mantida a partir de ácidos graxos dietéticos absorvidos e transportados em lipoproteínas intestinais (FATAHIA et al., 2012).

Os níveis de NUS apresentaram efeito ( $P<0,05$ ) nas colheitas antes e após a alimentação, atingindo o maior teor de 21,55% para o tratamento 500 mg/kg de substituição após a alimentação. A concentração de nitrogênio ureico estima a taxa de metabolização da amônia no fígado. Concentrações de NUS no sangue menores que 11 mg/dL podem indicar a deficiência de PDR na dieta e valores acima de 19 mg/dL podem estar relacionados ao excesso de PDR no rumen, o qual é absorvido pela corrente sanguínea (BRODERICK e REYNAL, 2009). As concentrações de ureia no sangue sobem após a alimentação, atingindo pico de 3 horas após seu início, retornando para concentrações antes da refeição em 5 a 6 horas (GUSTAFSSON e PALMQUIST, 1993). O excesso de amônia não aproveitado pela microbiota ruminal é absorvido pelo epitélio ruminal para a corrente sanguínea. Portanto, altas concentrações de nitrogênio sanguíneo indicam ineficiência no uso da proteína dietética ou excesso de nitrogênio na dieta, além da excreção de nitrogênio representar um gasto de energia pelo animal (BRODERICK e REYNAL, 2009).

## Conclusões

O NUS foi o parâmetro mais influenciado pelos níveis de substituição do farelo de soja pela ureia extrusda. A avaliação do NUS, indicou que os níveis de 375 e 500 g/kg forneceram excesso de proteína bruta ou proteína degradável no rúmen, ou houve ainda uma assincronia entre a degradação de proteína e a disponibilidade de energia. Recomenda-se a utilização da ureia extrusada até o nível de 250 mg/kg.

## Referências bibliográficas

- BRODERICK, G. A.; REYNAL, S. M. Effect of source of rumen-degraded protein on production and ruminal metabolism in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.2822-2834, 2009.
- BYERS, F. M.; SCHELLING, G. T. **Los lípidos em la nutrición de los rumiantes**. In: CHURCH, C. D. El Rumiante: fisiología digestiva y nutrición. Zaragoza: Acribia, 1993. p. 339-356.

- CALIXTO, M.; JOBIM, C.C.; DOS SANTOS, G.T.; BUMBIERIS, V.H. Blood constituents of holstein cows fed with corn or elephant-grass silages. **Semina-Ciências Agrárias**, v. 31, n. 2, p. 429-437, 2010.
- CONTRERAS P.A. 2000. **Indicadores do metabolismo proteico utilizado nos perfis metabólicos de rebanhos**, p.23-30. In: GONZÁLEZ F.H.D., OSPINA H., BARCELLOS J.O. & RIBEIRO L.A.O. (Eds), Perfil Metabólico em Ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Gráfica da UFRGS, Porto Alegre.
- FATAHIA, F.; SHAHSAVAR, A.; MIRZAEI ALAMOUTI, H.R.; DARMANI KOHI, H.; AMANLOU, H.; AHMADI, M. Influence of starch sources in prepartum diet on colostrum quality and blood immunoglobulin concentration of calves. **Iranian Journal Applied Animal Science**, v.2, n.1, p.57-61, 2012.
- FRASER, C. M. Manual merck de veterinária. 6. ed. São Paulo: Roca, 1991. 2169 p.
- GARCIA-BOJALIL, C.M.; STAPLES, C.R.; RISCO, C.A.; SAVIO, J.D.; THATCHER, W.W. Protein degradability and calcium salts of long-chain fatty acids in the diets of lactating dairy cows: productive responses. **Journal of Dairy Science**. v. 81, p. 1374-1384. 1998.
- GONZÁLEZ F.H.D. Ferramentas de diagnóstico e monitoramento das doenças metabólicas. **Ciência Animal Brasileira**, v.1, p.1-22, 2009.
- GONZÁLEZ, F.H.D. & SCHEFFER, J.F.S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil, 1, 2003. Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Gráfica UFRS. p.73-89.
- GUSTAFSSON, A.H.; PALMQUIST, D.L. Diurnal variation of rumen ammonia, serum urea, and milk urea in dairy cows at high and low yields. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.76, n. 2, p.475-84, 1993
- KANEKO, J.J., HARVEY, J.W, BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of Domestic Animals**. 6<sup>th</sup> ed. Academic Press, San Diego. 916p. 2008.
- LAMP, O., MICHAEL, D., WINFRIED, O., MANFRED, M., GERD, N. & BJÖRN, K. Metabolic heat stress adaption in transition cows: differences in macronutrient oxidation between late-gestating and early-lactating German Holstein dairy cows. **Plos One**, v. 10, n. 5, p. 1-24, 2015.
- REECE, W. O. Dukes, Fisiologia dos Animais Domésticos. 12ª ed. Rio de Janeiro: Guanabra Koogan, p. 926, 2006.
- STATISTICAL ANALISYS SYSTEM INSTITUTE - SAS. **User's guide: Statistics**. Cary: 2002.