

Comparación de las cinéticas de liberación de N-NH₃ *in vitro* y de la degradación ruminal del N de la urea protegida, urea y subproductos agroindustriales

Marichal, M. de J.¹; Trujillo, A.I.¹; Guerra, M.H.¹; Carriquiury, M.; Piaggio, L.²

¹Departamento de Producción Animal y Pasturas, Nutrición Animal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Uruguay.

²Secretariado Uruguayo de la Lana, Uruguay. Correo electrónico: marichal@fagro.edu.uy

Recibido: 7/3/09 Aceptado: 6/11/09

Resumen

Se compararon cinéticas de liberación de N-NH₃ y degradación ruminal del N, de urea cubierta por polímeros biodegradables (urea protegida), urea, harina de girasol, harina de soja, gluten meal y farelo de cervecera deshidratado. La liberación de N-NH₃ se estudió *in vitro*, incubando (fluido ruminal+solución nutritiva) muestras durante 0, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 12 y 24 h. La degradación ruminal se estudió *in situ*, incubándose (2, 4, 12, 24, 48 y 72h; dos períodos) bolsas en ovinos fistulados. Urea y urea protegida mostraron el N-NH₃ más elevado ($P < 0,001$), registrando urea protegida valores menores ($P < 0,05$) hasta las 12 h, igualándose ($P = 0,17$) a las 24 h. En rumen, urea protegida mostró la mayor ($P < 0,001$) tasa de liberación (kd) de N ($3,62 \text{ h}^{-1}$), desapareciendo 95% del N total en la primera hora mostrando un comportamiento diferente al esperado. Lavado a máquina y temperatura de secado (60°C) de las bolsas, pudieron alterar la cubierta de la urea. Por esto, se midió desaparición de MS de urea protegida incubada *in situ* en bolsas lavadas mecánica o manualmente, y secadas a 39 o 60°C . Con lavado mecánico desapareció más ($P < 0,001$) MS, tendiendo a ser menores ($P = 0,07$) las pérdidas de MS a 39°C . Nuevamente, se evaluó *in situ* la urea protegida (lavado manual; secado: 39°C), registrándose menor ($P < 0,001$) kd ($1,59 \text{ h}^{-1}$) y máxima desaparición de N (91%) 8 h post-incubación. En urea protegida el N estuvo disponible en rumen más lentamente que en urea pero más rápidamente que en los subproductos.

Palabras claves: urea protegida, N amoniacal, degradabilidad, subproductos agroindustriales, ovino

Summary

Comparison of kinetics of *in vitro* N-NH₃ production and rumen degradation of N of coated urea, urea and agro industrial by products

Kinetics of N-NH₃ production *in vitro*, and degradation of N in rumen of urea coated with biodegradable polymers (coated urea), urea, sunflower meal, soybean meal, gluten meal, and dehydrated brewers' grains, were compared. Ammonia production was evaluated by incubating (ruminal fluid + nutritive solution) samples during 0, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12 y 24 h. Ruminal degradation was studied *in situ*, incubating (2, 4, 12, 24, 48 y 72 h; two periods) bags in two fistulated wethers. Urea and coated urea showed the greatest ($P < 0,001$) N-NH₃, registering coated urea lower ($P < 0,05$) values up to 12 h, which were similar ($P = 0,17$) at 24h. In rumen, coated urea appeared with the greatest ($P < 0,001$) N degradation rate (kd) ($3,62 \text{ h}^{-1}$), disappearing 95% of total N at first hour of incubation, results that were different from expected. Washing procedure (mechanical) and drying temperature (60°C) of bags, may have modified urea cover; then, DM disappearance of coated urea incubated *in situ* with bags machine or hand washed, and dried at 39 and 60°C was evaluated. Mechanical procedure resulted in greater ($P < 0,001$) DM disappearance than manual

procedure, with a tendency ($P = 0,07$) to lower DM loss when drying at 39°C . Once again, coated urea incubated in situ (manual washed and drying at 39°C), registered lower ($P < 0,001$) kd ($1,59\text{ h}^{-1}$) than previously, and maximum N disappearance of N (91%) 8 h post-incubation. In coated urea N release in rumen was slower than in urea but faster than in byproducts.

Key words: coated urea, ammonia N, degradability, agro industrial by-products, sheep

Introducción

En la formulación de dietas para rumiantes el aporte proteico es realizado tanto con fuentes proteicas como con fuentes de nitrógeno no proteico (NNP). El uso de estas últimas se basa en la capacidad de los microorganismos del rumen en emplear ese N en la síntesis proteica (Galo *et al.*, 2003; Van Soest, 1994). La urea es la fuente de NNP más utilizada, pero presenta limitantes en su uso, fundamentalmente por su rápida hidrólisis resultado de la acción de ureasas microbianas. La liberación rápida de nitrógeno amoniacal (N-NH_3) puede generar una ineficiencia en el uso de la energía absorbida desde el tracto gastrointestinal, al emplearse ésta en la síntesis de urea en el hígado y su posterior excreción en la orina. También puede derivar en cuadros de intoxicación de los animales y/o producir efectos negativos en el ambiente cuando la cantidad de N-NH_3 absorbido desde el rumen es elevada (Stanton y Whittier, 2007). A efecto de disminuir esos riesgos se han evaluado distintas fuentes alternativas de NNP cuya liberación de N-NH_3 en el rumen es más lenta que la de la urea (Di Lorenzo y Di Constanzo, 2007; Cunha de Oliveira *et al.*, 2004, Loest *et al.*, 2001), disponiéndose actualmente a nivel comercial de urea cubierta por polímeros biodegradables (urea protegida). Según García-González *et al.* (2007), la desaparición inicial de este producto en el rumen sería 7 %, presentando una tasa de desaparición de $0,237\text{ h}^{-1}$ durante su permanencia en el rumen. Esto resultaría en un uso más eficiente de la urea por los microorganismos del rumen al presentar una disponibilidad inicial y una tasa de liberación de N en el rumen, más acorde con las de la energía de los alimentos más frecuentemente empleados en las raciones de los rumiantes. Como producto comercial, esta urea protegida se reporta con una tasa de degradación del N similar a la harina de soja, presentando la ventaja de una alta concentración de N (274 % de proteína equivalente en la MS) (Harrison y Karnezos, 2005). La disponibilidad de fuentes de NNP con estas características, amplía el espectro de alimentos para dietas de rumiantes, que optimicen el empleo de los compuestos nitrogenados alimentarios, colaborando simul-

táneamente en disminuir la excreción de N al ambiente. Adicionalmente, el empleo de compuestos con muy alta concentración de N que reemplazan parcialmente otros alimentos proteicos, dan al nutricionista flexibilidad en la formulación de dietas.

Existe información de la respuesta animal al incluir urea protegida sustituyendo otras fuentes de N (Mascardi, 2007; Harrison y Karenzos, 2005; Taylor *et al.*, 2005; Galo *et al.*, 2003). Sin embargo, no se encontraron antecedentes en que se la compare con otros suplementos proteicos en término de los índices que hoy se emplean en la caracterización proteica de los alimentos para rumiantes, como ser las cinéticas de liberación de amonio y degradación ruminal del N.

Fue objetivo de este trabajo comparar las cinéticas de liberación de N-NH_3 *in vitro* y de la degradación ruminal del N de la urea protegida con las correspondientes de urea, harina de girasol, harina de soja, gluten meal y farelo de cervecera deshidratado

Materiales y Métodos

Alimentos

Los alimentos evaluados fueron urea protegida, urea, harina de girasol, harina de soja, gluten meal y farelo de cervecera deshidratado (*dried brewers' grains*). Los alimentos incluidos en la evaluación se seleccionaron por la diversidad de cinéticas de degradación ruminal del N (Enishi *et al.*, 2005; NRC, 2001; Jarrige *et al.*, 1995; Cozzi y Polan, 1994; AFRC, 1993; Armentano, 1986).

Caracterización química de los alimentos

En los alimentos se determinó materia seca (MS) y nitrógeno total (N total, Kjeldahl, proteína cruda (PC) = $\text{N} \times 6,25$, utilizando como estándar Lisina) según AOAC (1990). En los alimentos de origen vegetal se cuantificaron las fracciones A y B1 del Sistema de Carbohidratos y Proteínas Neta de Cornell (Sniffen *et al.*, 1992) según Licitra *et al.* (1996). La fracción A comprende los compuestos nitrogenados no proteico, y la fracción B1 estima la proteína verdadera degradable rápidamente.

Animales

En los estudios de liberación de N-NH₃ y de degradabilidad ruminal del N se emplearon dos ovinos Corriedale, machos castrados, con fístulas permanentes de rumen, alimentados con heno mezcla de gramíneas y leguminosas (17 % PC, 51 % FDN) a razón de 3 kg de MS/100 kg de peso vivo. Este régimen alimenticio se inició 21 días previos al comienzo de los experimentos. Los animales se alojaron en Bretes individuales y se les suministró heno dos veces al día (8 y 17 h), teniendo acceso libre a agua de buena calidad y sales minerales. Se aplicaron los criterios de buenas prácticas de laboratorio establecidos en la Ordenanza sobre uso de animales en experimentación, docencia e investigación Universitaria (Diario Oficial N° 25.467, 2000).

Liberación de N-NH₃ *in vitro*

La evaluación de la producción de N-NH₃ se realizó *in vitro* incubando muestras de los alimentos en una mezcla de fluido ruminal y solución nutritiva. Para ello, se emplearon recipientes de 250 mL con válvulas de una vía y un baño de María con agitación continua a 39°C. En los recipientes se colocaron muestras de los alimentos y 200 mL de una mezcla de fluido ruminal y solución nutritiva en proporción 1:4. En cada recipiente se colocaron cantidades de alimentos correspondientes a 155 mg de N. Cada alimento se incubó en triplicado, incluyéndose recipientes conteniendo únicamente la mezcla de fluido ruminal y solución nutritiva (blancos). La solución nutritiva estaba compuesta por una mezcla de soluciones con macro (2 L H₂O desionizada, 11,4 g Na₂HPO₄, 12,4 g KH₂PO₄, 1,2 g MgSO₄·7H₂O) y micro (100 mL agua desionizada, 13,2g CaCl₂·2H₂O, 10g MnCl₂·4H₂O, 1g CoCl₂·6H₂O y 8 g FeCl₃·6H₂O) minerales, solución buffer (2 L H₂O desionizada, 8 g bicarbonato de amonio, 70 g bicarbonato de sodio) y HCl cisteína como agente reductor. De cada recipiente se colectaron muestras (10 mL) a las 0, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, y 24 h de incubación que se colocaron en tubos conteniendo 50 µL de H₂SO₄ al 50 %, se almacenaron (-20°C) y se determinó N-NH₃ (Kjeldahl) (AOAC, 1990).

Cinética de la degradación del N en el rumen

La cinética de la degradación ruminal se estudió usando la técnica «in situ» de la bolsa de nylon (Orskov y McDonald, 1979). Las muestras de alimento (3g) contenidas en bolsas de poliéster (Ankom 1020; tamaño 10 cm x 5 cm; tamaño de poro promedio 50 µm) fueron incubadas 2, 4, 12, 24, 48 y 72 h. Todos los alimentos fueron incubados en dos ovinos, siendo sometidos to-

dos los alimentos a dos períodos de incubación. El segundo período de incubación se realizó inmediatamente luego de finalizado el primero; obteniéndose así 4 valores de desaparición de N por alimento y tiempo de incubación. Las bolsas a incubar se introdujeron en el rumen en el momento inmediatamente previo a la comida de la mañana, y se retiraron a la horas fijadas. Previo a su incubación las bolsas se sumergieron en agua tibia (39° C, 15´), y al retirarlas del rumen, fueron sumergidas en agua con hielo, enjuagadas someramente y almacenadas a -20° C. El N desaparecido en el tiempo cero de incubación (T₀), se determinó empleando 4 bolsas por alimento, las que fueron manipuladas igual que las incubadas pero no introducidas en el rumen. Una vez descongeladas, las bolsas se lavaron 3 veces en un lavarropa automático (30 L de agua, 30 bolsas por ciclo de lavado, 3´) usando un programa «suave» sin centrifugado. Las bolsas se secaron en estufa de aire forzado (60° C, 48 h), y se pesaron. Los residuos de un mismo alimento, capón y tiempo de incubación fueron agrupados para cuantificar N (Kjeldahl; AOAC, 1990).

Efecto del método de lavado y temperatura de secado en la desaparición de la urea protegida

Se incubaron (15´, 1, 8 y 16 h) bolsas (mismas características que las utilizadas en el procedimiento *in situ*, 4 bolsas/tiempo de incubación/método de lavado/temperatura de secado) conteniendo urea protegida (3 g) en un equipo DAISY II (Ankom Technology Corp. Fairport, NY, USA) en 4 botellas (2500 mL de agua, 39° C, agitación continua). En el lavado mecánico se procedió de la misma manera que en el ensayo previo, mientras que en el procedimiento alternativo las bolsas se lavaron manualmente 4 veces consecutivas, sumergiéndolas en agua, agitándolas «suavemente», y cambiándose el agua luego de cada lavado. Las bolsas lavadas mecánica y manualmente, se dividieron en dos grupos, secándose a 60° C ó a 39° C (temperatura normal del rumen).

Cálculos y Análisis Estadísticos

El N-NH₃ liberado en cada tiempo de incubación se calculó como la diferencia entre los mM de N-NH₃ registrados para cada alimento y tiempo de incubación, y los mM de N-NH₃ liberados por el blanco en ese mismo tiempo, en relación a mM de N en la muestra incubada. El N desaparecido en el rumen se calculó como la diferencia entre la cantidad de N pre y post incubación y se expresó como porcentaje del N incubado. La evolución de la desaparición del N de las bolsas incubadas

en el rumen en relación al tiempo de incubación (incluyendo los valores T_0) se describió para cada animal usando un modelo que no incluía un tiempo de demora de inicio de la digestión (Ørskov y McDonald, 1979; Modelo 1) y otro que incluía ese tiempo de demora (Dhanoa, 1988; Modelo 2). Los modelos 1 y 2 fueron, respectivamente, $D = a + b * (1 - e^{-kd_t})$, y $D = a + b * (1 - e^{-kd(t-L)})$. Donde, D= desaparición de N, las constantes a y b representan, respectivamente, la fracción soluble (FS) y la fracción potencialmente degradable (FPD) que desaparece a una tasa fraccional constante (kd) por unidad de tiempo, t es el tiempo de incubación y L es el tiempo de demora de inicio de la digestión (tiempo lag). Para estimar los parámetros se usó el PROC NLIN por el método Marquardt (SAS Inst. Inc., Cary, NC.). Se reportaron los valores estimados con el Modelo 1 pues no se detectaron tiempos lag al calcular los parámetros con el Modelo 2. Los resultados de liberación $N-NH_3$ *in vitro* y de la cinética de la degradación ruminal del N fueron analizados usando el PROC MIXED (de SAS Inst. Inc., Cary, NC). Los registros de N amoniacal se analizaron en un diseño completamente aleatorizado, considerando los efectos alimento, tiempo, y la interacción alimento x tiempo, con «recipiente» como efecto aleatorio y tiempo como medidas repetidas. Los resultados de la cinética de la degradación del N en el rumen se analizaron en un diseño de bloques al azar, incluyendo en el modelo el alimento como efecto principal, y el animal como efecto aleatorio. Los resultados del efecto del tipo de lavado y temperatura de secado se analizaron en un diseño completamente aleatorizado con un arreglo factorial de los tratamientos (secado, lavado), usándose el PROC GLM de SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC). Los resultados difirieron cuando $P \leq 0,05$. y diferencias entre medias con valores de $P > 0,05$ y $\leq 0,15$ se aceptaron como tendencias a diferencias.

Resultados y discusión

Aporte de PC y su fraccionamiento químico

En el Cuadro 1 se presenta el contenido de PC y el fraccionamiento químico del N de los alimentos evaluados. La PC de los alimentos evaluados varió entre 30 y 264%, observándose los valores mayores en las fuentes de NNP (42,2 y 39,4 % de N en la urea y urea protegida, respectivamente); valores levemente inferiores a los esperados (45 – 46 % y 39,1 – 43,7 % de N en la urea y urea protegida, respectivamente). La urea protegida presentó menor concentración de N que la urea (93% del valor de la urea), resultado de la presencia de la cubierta de polímeros que diluye el valor de N del material original. Las fuentes proteicas de origen vegetal presentaron contenidos de PC entre 30 y 70 % (BS), encontrándose los valores de los alimentos individuales en los correspondientes rangos de valores tabulares publicados (Marichal, 2009; Mieres, 2004; de Blas *et al.*, 2003; Gaggiotti *et al.*, 2001; NRC, 2001). Las dos fuentes de NNP presentaron 100 % del N en la fracción A mientras que en los subproductos agroindustriales los valores de A + B1 variaron entre 32 y 8 % del N total siendo la fracción A menor a 5 % en todos estos alimentos. Los valores de las fracciones A y B1 reportados en este trabajo fueron concordantes con los valores presentados por el NRC (2001).

Liberación de $N-NH_3$ *in vitro*

Se observaron diferencias ($P < 0,05$) en los patrones de liberación de $N-NH_3$ de los alimentos (Figura 1), identificándose una interacción del alimento con el tiempo de incubación ($P < 0,001$). La urea y la urea protegida mostraron los registros más elevados ($P < 0,001$), observándose los menores ($P < 0,001$) valores en el farelo

Cuadro 1. Materia seca, proteína cruda y fraccionamiento químico del N de los alimentos evaluados.

Alimento	MS %	PC %, BS	A	B1
			% de PC	
Urea	99	264.0	100	-
Optigen	99	246.1	100	-
Harina de girasol	89.1	35.4	3.6	28.0
Harina de soja	87.2	46.3	2.9	12.6
Farelo deshidratado	91.4	30.3	4.6	2.9
Gluten Meal	90.4	70.0	4.4	9.3

MS: material seca; PC: proteína cruda; A : Fracción A = N no proteico; B1: Fracción B1 = N verdadero rápidamente degradable en el rumen.

de cervecería deshidratado y el gluten meal, presentando las harinas de girasol y la harina de soja valores intermedios, y diferentes ($P < 0,001$) a los alimentos anteriores.

En las distintas horas de muestreo, se observaron diferencias ($P < 0,05$) en la liberación de $N-NH_3$ en la urea y la urea protegida. El primer registro tendió a ser menor ($P = 0,11$) en la urea protegida que en la urea (3 y 14 %, respectivamente), observándose diferencias ($P < 0,02$) desde el segundo registro (1h de incubación) (14 y 30 %, respectivamente) hasta las 12 h (55 y 78 %, respectivamente), igualándose ($P = 0,17$) los valores a las 24 h (64 y 72 % en urea protegida y urea, respectivamente). En la urea y la urea protegida la mitad del N total apareció como $N-NH_3$ a las 2 y 6h de incubación, respectivamente, y la máxima liberación se observó a las 6 y 24 h en la urea (72 %) y urea protegida (64 %), respectivamente. En farelo de cervecería deshidratado y gluten meal, no se detectaron diferencias ($P > 0,23$) en la liberación de $N-NH_3$ en las distintas horas de medición de cada alimento, ni entre alimentos en cada momento de registro, siendo los valores similares ($P > 0,62$) a las 24 h (5 y 8 % en farelo de cervecería deshidratado y gluten meal, respectivamente). En harina de soja y harina de girasol, las proporciones de $N-NH_3$ liberadas varió de 1 a 30 % (0 y 24 h, respectivamente), detectándose los incrementos ($P < 0,03$) en la liberación a partir de las 8 y 12 h de registro (harina de soja y girasol, respectivamente) y hasta las 24 h. No se detectaron diferencias ($P > 0,27$) entre estos dos alimentos en los registros de $N-NH_3$ en cada uno de los tiempos de medición.

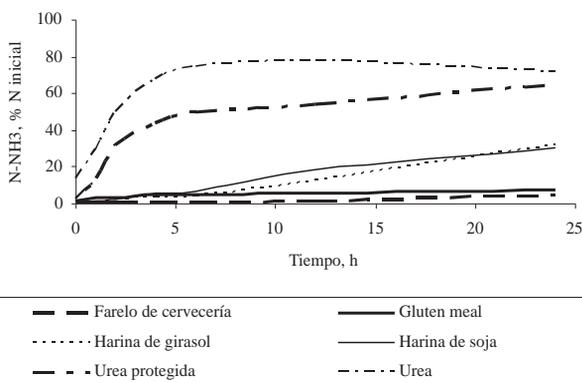


Figura 1. Cinética de la liberación de $N-NH_3$ de los alimentos incubados *in vitro*.

En este experimento, la urea protegida mostró una liberación más lenta de $N-NH_3$ que la urea, esto estaría evidenciando que los materiales con que se recubrió este alimento fueron eficaces en el control de la liberación de N. Las diferencias observadas en la dinámica de la liberación de $N-NH_3$ en este trabajo, podrían no evidenciarse cuando la urea protegida sustituye a la urea en las raciones, tal como lo informan Machado Nogueira *et al.* (2005). Estos autores reportan concentraciones similares de amonio en el rumen, a las 4 h luego del consumo de una mezcla de alimentos conteniendo 1 % de urea, o urea protegida sustituyendo 84% de la urea. La menor liberación de $N-NH_3$ de los subproductos vegetales respecto a las fuentes NNP respondería a la baja proporción del N más fermentescible (fracciones A y B1) en el N total en los subproductos.

Cinética de la degradación del N en el rumen

Los datos de N desaparecido de la urea protegida y los subproductos, no evidenciaron tiempos de retardo de inicio de la digestión (tiempo lag), y se ajustaron al modelo de Orskov y McDonald (1979) con r^2 superiores a 0,81 para todas las curvas individuales alimento-animal. La totalidad de N de la urea desapareció durante el período previo de remojo de las bolsas antes de su incubación en el rumen pues no se registró N en las bolsas de los To. En la figura 2 se presenta la cinética de desaparición del N de los alimentos incubados en el rumen. En la urea protegida (96 %), harina de soja (91 %) y harina de girasol (90 %) se registraron valores similares ($P > 0,39$) de desaparición del N (FS+FPD) en el rumen. Estos valores fueron mayores ($P < 0,007$) que los del gluten meal (25 %) y el farelo de cervecería deshidratado (64 %), siendo el desaparecido del farelo superior ($P = 0,007$) al del gluten meal. La urea protegida registró mayor ($P < 0,04$) FS (53 %) que la harina de girasol (30 %), farelo de cervecería deshidratado (23 %), harina de soja (21 %) y gluten meal (17 %), no observándose diferencias ($P > 0,28$) entre las FS del farelo de cervecería, harina de soja y gluten meal. La FPD de la urea protegida (43 %) y el farelo de cervecería deshidratado (41 %) fueron similares ($P > 0,33$) y menores ($P < 0,02$) que los de la harina de girasol y harina de soja (61 y 69 %, respectivamente; 0,32), registrándose la menor ($P < 0,02$) FPD en el gluten meal (18 %). La tasa de degradación mayor ($P < 0,001$) se observó en la urea protegida ($3,62h^{-1}$), presentando el farelo de cervecería, la harina de soja, y el gluten meal valores similares (0,06, 0,05 y $0,06h^{-1}$, respectivamente).

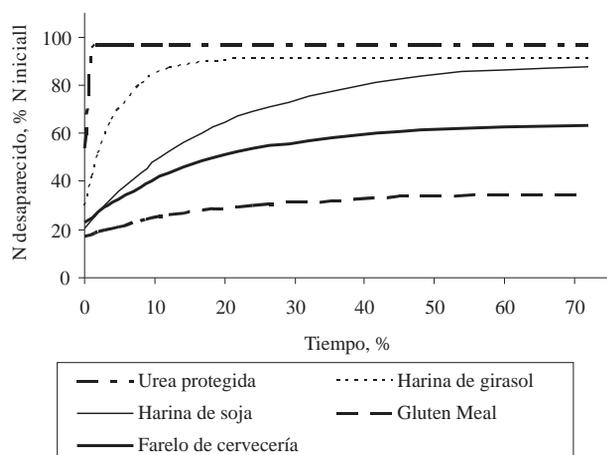


Figura 2. Cinética de la degradación del N de los alimentos incubados en el rumen.

Urea protegida: $y = 53.5 + 43.0 * (1 - e^{-3.61t})$; Harina de girasol: $y = 30.1 + 60.9 * (1 - e^{-0.22t})$;

Gluten meal: $y = 17.1 + 17.7 * (1 - e^{-0.06t})$, Harina de soja: $y = 20.6 + 68.9 * (1 - e^{-0.05t})$;

Farelo de cervecera deshidratado: $y = 22.8 + 41.4 * (1 - e^{-0.05t})$.

te; $P > 0,23$) pero menores ($P < 0,02$) que la harina de girasol ($0,22h^{-1}$).

En concordancia con lo esperado, se observó una diversidad de cinéticas ($P = 0,003$) entre los alimentos estudiados, registrándose valores de los parámetros de la degradación de los subproductos agroindustriales, acordes con los presentados por Armentano (1986), AFRC (1993), Cozzi y Polan, (1994), Jarrige *et al* (1995), Jarrige *et al* (1995), NRC (2001) y Enishi *et al*. (2005).

Mientras en la urea durante el tiempo de remojo previo a la incubación (15') desapareció la totalidad del N, en la urea protegida en ese mismo período se solubilizó 50% del N, desapareciendo 95% en la primera hora de permanencia en el rumen, comportamiento que definió la tasa de degradación observada. La FS (54%) y el kd ($3,61/h$) observados en este trabajo fueron superiores a lo reportado por García-González *et al*. (2007) (7% y $0,24 h^{-1}$ respectivamente) para un producto con características similares. Estas diferencias pudieron resultar de los procedimientos empleados, ya que esos autores indican que las bolsas no fueron lavadas luego del procedimiento *in situ*.

Se consideró que la discrepancia entre los resultados obtenidos en este trabajo y los esperados, podría deberse a alteraciones, durante el procedimiento *in situ*, de la integridad del polímero que recubría la urea. Por esta razón, se evaluó la desaparición de la MS de la urea

protegida cuando las bolsas incubadas fueron sometidas a dos métodos de lavado (mecánico y manual) y dos temperaturas de secado (39 y $60^{\circ}C$). No se detectaron interacciones entre los tiempos de incubación y los procedimientos de lavado o temperaturas de secado ($P > 0,22$). El lavado convencional produjo mayores ($P < 0,001$) desapariciones de MS de las bolsas que el lavado manual (60,6 y 31,6%, respectivamente), y la MS desaparecida tendió a ser menor ($P = 0,06$) cuando las bolsas se secaron a $39^{\circ}C$ que a $60^{\circ}C$ (43,8 y 48,3%, respectivamente). Estos resultados difieren de los presentados por Akay (2005) quien reportó que las características de la cobertura y la propiedad de liberación controlada de una urea protegida (similar a la empleada en este trabajo), no fueron afectadas cuando la urea fue sometida a $50^{\circ}C$ durante 7 días, o sometida a agitación mecánica durante 5, 10, 15 y 20'.

En vista de estos resultados, se evaluó nuevamente la urea protegida por el procedimiento *in situ*, incluyéndose la harina de soja como control de las condiciones de incubación. Las bolsas se lavaron manualmente (como indicado en el párrafo previo), y se secaron a $39^{\circ}C$ hasta peso constante. Dado que la cinética de la degradación del N de la harina de soja fue similar ($P < 0,05$) a la obtenida en el experimento previo, se compararon los parámetros de la degradación del N de la urea protegida resultantes de la primera y segunda evaluación. El N desaparecido (FS + FPD) fue similar (96 y 90% respectivamente; $P = 0,15$) en las dos evaluaciones; en la segunda evaluación, la urea protegida registró menor ($P < 0,001$) FS y kd, (20 y 53%, $1,59$ y $3,61 h^{-1}$ respectivamente), y mayor ($P < 0,001$) FPD (70 y 43%, respectivamente) que en la primera (Figura 3). Así mismo, en la segunda evaluación, la máxima desaparición de N (91%) se observó a las 8 h mientras que en la primera esto se evidenció en la primera hora de incubación.

Si bien la cinética de la desaparición del N en el rumen cambió al modificar el procedimiento de lavado y la temperatura de secado de las bolsas incubadas, los parámetros de la degradación permanecieron mayores a los de la harina de soja. El N desaparecido en la primera hora de incubación en la segunda evaluación, representó 80% del desaparecido - en el mismo momento - en la primera evaluación. Esta diferencia estuvo acorde con lo informado por Galo *et al*. (2003) quienes observaron, en la primera hora de incubación *in vitro*, una disminución de 81% en la liberación de urea al comparar urea protegida manipulada mecánicamente y no manipulada mecánicamente. Estos resultados, en contraposición con lo reportado por Akay (2005), sugeri-

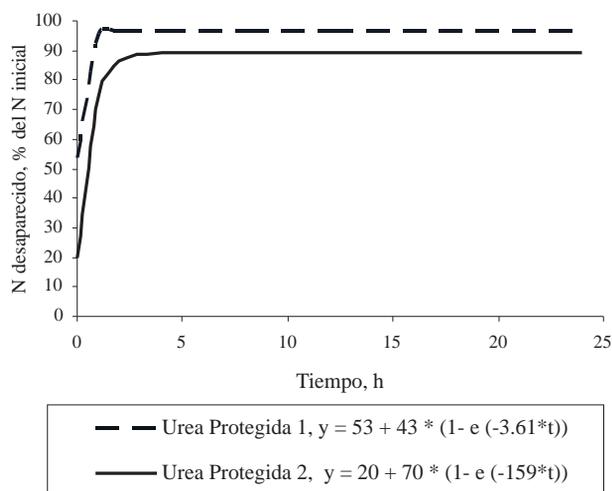


Figura 3. Desaparición ruminal de la urea protegida cuando las bolsas incubadas en el rumen fueron lavadas por un procedimiento mecánico y secadas a 60°C (urea protegida 1) o lavadas manualmente y secadas a 39°C (urea protegida 2).

rían que el manipuleo de este alimento puede alterar su cinética de liberación de N en el rumen.

Conclusiones

La urea protegida se mostró como un producto cuyo N queda disponible en el rumen más lentamente que el de la urea pero más rápidamente que el N de los alimentos proteicos de origen vegetal evaluados. El reemplazo de urea por urea protegida permitiría sustituir una mayor proporción del N de los alimentos proteicos por NNP dado que, en las horas próximas a su consumo, presentaría una liberación de N-NH₃ en rumen más lenta. Adicionalmente, las condiciones de almacenamiento y manipuleo de la urea protegida podrían alterar las propiedades físicas de la cubierta.

Agradecimientos

Se agradece a la Ing. Agr. Gabriela Arias y Bach. Shirley Furtado por su apoyo permanente en los trabajos de laboratorio y a la Sra. Ana Miranda por su trabajo con los animales.

Bibliografía

- Akay, V.** 2005. The effects of adverse environmental conditions on controlled release property of Optigen® 1200. *Journal of Dairy Science* 88, Suppl. 1: W192.
- AFRC.** 1993. Energy and Protein Requirements of Ruminants. An advisory manual prepared by the AFRC Technical Committee on Responses to Nutrients. CAB International, Wallingford, UK.
- Association of Official Analytical Chemists.** 1990. Official Methods of Analysis, 13th Ed. AOAC, Washington, D.C.
- Armentano, L. E.; Herrington, T. A.; Polan, C. E.; Moe, A. J.; Herbein, J. H. and Umstadt, P.** 1986. Ruminant degradation of dried brewers grains, wet brewers grains, and soybean meal. *Journal of Dairy Science* 69:2124-2133.
- Cozzi, G. and Polan, C. E.** 1994. Corn gluten meal or dried brewers grains as partial replacement for soybean meal in the diet of Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 77: 825-834.
- Cunha de Oliveira Junior, R.; Vaz Pires, A.; Susin, I.; de Resende Fernandes, J. J. e Portela Santos, F. A.** 2004. Digestibilidade de nutrientes em dietas de bovinos contendo uréia ou amiréria em substituição ao farelo de soja. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 39: 2 - 8.
- de Blas, C.; Mateos, G. G. y Rebollar, P. G.** 2003. Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos (2ª edición) Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Madrid, España. Disponible en Marzo 2009 en: <http://www.etsia.upm.es/fedna/tablas.htm#top>.
- Di Lorenzo, N. and Di Constanzo, A.** 2007. In vitro release of ammonia nitrogen from various nitrogen sources in batch culture. *Journal of Animal Science* 85, Suppl. 2: N138.
- Dhanoa, M. S.** 1988. On the analysis of dacron bag data for low degradability feeds. *Grass and Forage Science* 43: 441-443.
- Diario Oficial** N° 25.467, Febrero 21 de 2000, 1440-C a 1444-C, carillas N° 64 a 68. Dirección Nacional de Impresiones y Publicaciones Oficiales, Montevideo. Uruguay.
- Enishi, O.; Kuroiwa, R.; Saeki, M. and Kawashima, T.** 2005. Evaluation of protein characteristics of underutilized by-products as feedstuffs for ruminant. *Japan Journal of Grassland Science* 51: 281-299.
- Gaggiotti, M. del C.; Romero, L. A.; Bruno, O.; Cameron, E. y Quaino, O. R.** 2001. Tabla de composición química de alimentos: IV. Productos y Subproductos de las agroindustrias. Disponible en Marzo 2009 en: http://www.produccionbovina.com.ar/tablas_composicion_alimentos.

- Galo, E.; Emanuele, S. M.; Sniffen, C. J.; White, J. H. and Knapp, J. R.** 2003. Effects of a polymer-coated urea product on nitrogen metabolism in lactating Holstein dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 86: 2154–2162.
- García-González, R.; Tricarico, J. M.; Harrison, G. A.; Meyer, M. D.; McLeod, K. D.; Harmon, L. and Dawson, K. A.** 2007. Optigen® is a sustained release source of non-protein nitrogen in the rumen. *Journal of Animal Science* 85, Suppl. 1: M300.
- Harrison, G. A. and Karnezos, T. P.** 2005. Can we improve the efficiency of nitrogen utilization in the lactating dairy cow? *Recent Advances in Animal Nutrition in Australia* 15:143-154.
- Huntington, G. B.; Harmon, D. L.; Kristensen, N. B.; Hanson, K. C. and Spears, J.W.** 2006. Effects of a slow-release urea source on absorption of ammonia and endogenous production of urea by cattle. *Animal Feed Science and Technology* 130: 225-241.
- Jarrige, R. ; Ruckebusch, Y. ; Demarquilly, C.; Farce, M. H. et Journet, M.** 1995. *Nutrition des Ruminants Domestiques*. INRA, Paris.
- Licitra, G.; Hernández, T. M. and Van Soest, P. J** 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology* 57: 347-358.
- Machado Nogueira Filho, J.C.; Camilo Valinote, A.; Garcia Herrera, R. and Leme, P. R.** 2005. Optigen® and Beef-sacc® in ammonia release and liquid kinetics on the rumen of water buffaloes fed high roughage diets. *BIOTAM*. 2: 20-22.
- Marichal, M. de J.; Costabel, M. y Arias, G.** 2009. Tablas de Composición Química de Subproductos Agroindustriales. In: M. de J. Marichal (ed). *Tablas de Composición de Alimentos: Subproductos Agroindustriales y Pasturas Cultivadas en Uruguay*. Facultad de Agronomía, Universidad de la República.
- Mascardi, L. E.** 2007. Evaluación de una fuente de urea protegida en la dieta de terneros alimentados a corral. Tesis Doctoral. Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Argentina.
- Mieres, J. M.** 2004. Guía para la Alimentación de los Rumiantes. Serie Técnica 142. INIA. Montevideo, Uruguay.
- National Research Council.** 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th Rev.Ed. National Academy Press, Washington, DC.
- Ørskov, E. R. and Mac Donald, I.** 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science* 92: 499-512.
- SAS.** 2001. *SAS User's Guide: Statistics*. SAS Institute, Inc., Cary, NC.
- Sniffen, C. J., O'Connor, J. D.; Van Soest, P. J., Fox, D. G. and Russell, J. B.** 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating diets: II. Carbohydrate and protein availability. *Journal of Animal Science* 70: 3562-3577.
- Stanton, T. L. and Whittier, J.** 2007. Urea and NPN for Cattle and Sheep. Colorado State University. Extension Sheet 1.608.
- Taylor, C. C; Elam, N. A.; Kitts, S. E.; McLeod, K. R.; Axe, D. E. and Harmon, D. L.** 2005. Influence of slow-release urea on N balance and nutrient absorption of steers. *Journal of Animal Science* Vol. 83, Suppl. 1: M58.
- Van Soest, P. J.; Roberston, J. B. and Lewis, B.A.** 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74: 3583-3597.