

## **Comparação de fontes de ureia de lenta liberação sobre a degradação *in vitro* do capim King grass (*Pennisetum purpureum* x *Pennisetum typhoides*)**

**R R Noguera, S L Posada e C I Restrepo<sup>1</sup>**

*Universidade de Antioquia, Faculdade de Ciências Agrárias - Grupo de Pesquisa em Ciências Agrárias - GRICA, AA 1226, Medellín, Colômbia.*

*ricnoguera@gmail.com<sup>1</sup>*

*Nexentia S.A.S. Sabaneta, Colômbia*

### **Resumo**

O objetivo deste trabalho foi avaliar *in vitro* o efeito de duas fontes de ureia de lenta liberação sobre a degradação da matéria seca do capim King grass (*Pennisetum purpureum* x *Pennisetum typhoides*). Foram avaliados mediante a técnica *in vitro* de produção de gases os seguintes tratamentos: SU= tratamento sem a adição de ureia; UP= tratamento com ureia coberta com polímero biodegradável; UCC= tratamento com ureia protegida em microcápsulas de carbonato de cálcio; UCOM= tratamento com ureia comercial. As variáveis testadas foram: degradação *in vitro* da matéria seca, concentração de amônia e produção de metano. Os dados foram analisados através de um modelo lineal misto, considerando como efeitos fixos os tratamentos e os horários de leitura e como efeito aleatório o animal doador do inoculo. As medias de tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p < 0.05$ ). Os tratamentos com ureia de lenta liberação (UP e UCC) exibiram uma maior degradação da matéria seca ( $p < 0.05$ ) que os tratamentos SU e UCOM. A ureia protegida em microcápsulas (UCC) mostrou um maior grau de proteção ( $p < 0.05$ ) ao liberar a menor quantidade de amônia (40% a menos que o tratamento com ureia comercial). O tratamento com ureia protegida em microcápsulas de carbonato de cálcio (UCC) apresentou a menor produção de metano quando comparada com o tratamento com ureia comercial (UC) mostrando que a energia do alimento foi empregada para o crescimento microbiano antes do que para a produção de metano. As fontes de ureia de lenta liberação foram mais eficientes que a ureia comercial para atingir uma maior degradação da matéria seca e melhorar a utilização do nitrogênio. Além disso, permitiram reduzir a produção de metano e amônia potenciais poluentes do meio ambiente.

*Palavras chave: amônia, gases de efeito estufa, metano, ruminantes*

## **Comparison of slow-release urea sources on *in vitro* degradation of King grass (*Pennisetum purpureum* x *Pennisetum typhoides*)**

### **Abstract**

The aim of this study was to evaluate the effect of two sources of slow release urea on *in vitro* dry matter degradation of King grass pasture. The treatments were evaluated by the *in vitro* gas production technique. SU = treatment without the addition of urea; UP = treatment with urea covered with biodegradable polymer; UCC = treatment with protected urea calcium carbonate microcapsules; UCOM = treatment with commercial urea. The variables studied were: dry matter degradation, ammonia concentration and methane production. Data were analyzed using a mixed linear model considering as a random effect the donor animal of inoculum and as fixed effects the treatments and the incubation time. The treatments were compared by Tukey test ( $p < 0.05$ ). The treatments with slow-release urea (UP and UCC) exhibited higher dry matter degradation ( $p < 0.05$ ) than the SU and UCOM treatments. The UCC treatment showed a greater degree of protection by a minor releasing of ammonia (40% less than the treatment with urea commercial) ( $p < 0.05$ ). The UCC treatment showed lower methane production when compared with the treatment with commercial urea (UCOM). This fact showing that the energy was used for microbial growth before than for methane production. The slow-release urea sources were more efficient than the commercial urea to achieve further degradation of dry matter and improve the use of nitrogen. Furthermore, these sources reduced the methane and ammonia production, potential environmental pollutants.

**Keywords:** ammonia, greenhouse gas, methane, ruminants

## Introdução

A ureia é uma fonte concentrada de proteína crua, de uso frequente na nutrição de ruminantes para incrementar o consumo de proteína degradável no rúmen (PDR) (Holder 2012). Depois de ingerida, a ureia é hidrolisada pelos microrganismos ruminais liberando nitrogênio amoniacal, que pode ser empregado pela flora ruminal para a síntese de proteína microbiana dependendo da disponibilidade de energia.

A ureia é usada ineficientemente para a síntese de proteína. A baixa eficiência tem sido atribuída a sua rápida hidrólise pelas enzimas microbianas, superando a capacidade de fixação e síntese das bactérias. Em termos gerais a eficiência de utilização do nitrogênio da dieta pelos ruminantes é baixa, aproximadamente 7.7% (Van der Hoek, 1998).

O fornecimento de PDR para os microrganismos é importante para o adequado funcionamento ruminal. Deficiências de PDR ou nitrogênio na dieta tem sido associadas a reduções no consumo de matéria seca e na degradação da fibra (Preston, 1995; Preston e Leng, 1986). A ureia representa uma estratégia a baixo custo para incrementar o fornecimento de PDR nos ruminantes, porém sua rápida taxa de degradação e liberação de amônia supera a capacidade de fixação por parte dos microrganismos ruminais, resultando numa acumulação de amônia no rúmen e perda do nitrogênio da ureia na urina.

O nível ideal de amônia no rúmen para uma ótima eficiência de digestão da matéria orgânica flutua entre 10 e 29 mg/dL (Church 1994), níveis maiores ou iguais a 100 mg/dL são tóxicos para o animal. Marini e Van Amburgh (2005) propõem que o consumo excessivo de PDR e proteína no degradável no rúmen (PNDR) ou um fornecimento desbalanceado destas frações proteicas, incrementam os níveis de excreção de nitrogênio por unidade de nitrogênio consumido, aumentando os custos de produção e a taxa de excreção de nitrogênio ao ambiente. Tomlinson et al (1996) avaliando dietas para vacas

leiteiras reportam que aumentos nas concentrações de proteína crua de 12 para 18% incrementam 2.3 y 0.25 vezes a excreção urinária e fecal de nitrogênio, respectivamente. Por sua parte, Frank et al (2002) avaliaram o efeito de dois níveis de proteína crua em dietas para vacas leiteiras (14 vs 19%) sobre a emissão de amônia e óxido nítrico, encontrando que as dietas com menor proteína tiveram emissões 75% menores que as de maior densidade proteica.

Par reduzir a taxa de liberação do nitrogênio da ureia no rúmen, diferentes métodos de proteção tem sido desenvolvidos (Fonnesbeck et al 1975; Deyoe 1968, Castro et al 1999; Galo et al 2003). Ente as vantagens do emprego destas fontes podemos citar: redução nas concentrações ruminiais de nitrogênio amoniacal, maior sincronia nas taxas de liberação de amônia e as taxas de degradação dos carboidratos estruturais, menor risco de intoxicação pelo nitrogênio e redução na poluição do meio ambiente ao reduzir a excreção do nitrogênio em fezes e urina.

O objetivo deste trabalho foi avaliar *in vitro* o efeito de duas fontes de ureia de lenta liberação sobre a degradação da matéria seca do capim King grass.

## **Materiais e Métodos**

### **Localização**

O experimento foi desenvolvido no laboratório de pesquisa em Nutrição Animal (NUTRILAB) da Universidade de Antioquia (Medellín – Colômbia). Os Animais doadores do inoculo foram três vacas da raça Holandês, não lactantes, com cânula ruminal permanente, mantidas em pastejo com capim Kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) na fazenda “La Montaña”, localizada a 25 km da cidade de Medellín (temperatura media 12°C, precipitação media anual de 1575 mm, humidade relativa 72%, (IDEAM, 1999).

### **Tratamentos experimentais**

Foram testadas duas fontes de ureia de lenta liberação. A primeira protegida através de uma cobertura de polímero biodegradável (UP) e a segunda protegida em microcápsulas de carbonato de cálcio (UCC) que lhe conferem a propriedade de liberação controlada. Para avaliar o grau de proteção, ureia comercial foi empregada como tratamento controle (UCOM) e para testar o efeito do nitrogênio sobre a cinética de degradação da matéria seca, um tratamento sem a adição de ureia foi incluído (SU).

### **Inoculo e inoculação**

O líquido ruminal foi coletado diretamente do rúmen de três animais doadores e armazenado em garrafas térmicas previamente aquecidas a 39°C. Os animais doadores do inoculo constituíram as repetições. Após a colheita o líquido ruminal foi levado para o laboratório e filtrado através de duas camadas de gaze para retirar o material sólido. A fração líquida foi gaseada continuamente com CO<sub>2</sub> e mantida em banho-maria a 39°C até a inoculação.

A incubação *in vitro* foi realizada em frascos de vidro com capacidade de 100 ml. Dentro dos frascos foram adicionados 500 mg de capim King grass, 5 ml de inoculo e 45 ml de solução tampão. Os frascos foram gaseados com CO<sub>2</sub> para garantir condições de anaerobiose, vedados com tampa de

silicone e incubados por 24 horas a 39°C em estufa de ventilação forçada como descrito por Posada et al (2012).

### Variáveis avaliadas

*Volume de gás:* A pressão gerada pelo acúmulo dos gases na parte superior dos frascos foi medido com ajuda de um transdutor de pressão (Ashcroft ®) nos horários 3, 6, 12 e 24 horas após a incubação. A pressão foi transformada em volume de gás como sugerido por Posada et al (2006).

*Degradação da matéria seca:* O desaparecimento da matéria seca durante a incubação foi determinado pela diferença entre o peso do substrato incubado e o peso do resíduo após a incubação nos horários 3, 6, 12 e 24 horas.

*Nitrogênio amoniacal (NNH<sub>3</sub>):* Para determinar o nitrogênio liberado no meio, um determinado número de frascos foi retirado do processo fermentativo às 3, 6, 12 y 24 horas, filtrados em cadinhos de vidro (porosidade 1) e na fração líquida determinada a concentração de NNH<sub>3</sub> (Silva 1990).

*Produção de metano:* Após as leituras de pressão, uma alíquota de gás (100 µL) foi coletada com ajuda de uma seringa gastight (ThermoScientific®). A concentração de metano na amostra foi determinada por cromatografia de gases como relatado por Posada et al (2014).

### Análise estatístico

Os dados foram analisados através de um modelo lineal misto, considerando como efeitos fixos os tratamentos e os horários de leitura e como efeito aleatório o animal doador do inoculo. Para o análise, os animais doadores do inoculo constituíram as repetições. As medias de tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey (p<0.05). Todas as análises foram feitas com ajuda do programa computacional SAS University Edition (SAS.com 2015).

## Resultados

Na Tabela 1 é apresentada a composição química do capim King grass e a concentração de nitrogênio das fontes avaliadas.

**Tabela 1.** Composição química do capim King grass e conteúdo de nitrogênio das fontes de nitrogênio testadas.

Item <sup>1</sup>	King grass	UP	UCC	UCOM
Matéria seca, %	24.3	-	-	-
Proteína bruta, % da MS	6.8	247.1	253.7	252.4
Fibra detergente neutro, % da MS	80.3	-	-	-
Fibra detergente ácido, % da MS	74.8	-	-	-
Hemicelulose, % da MS	5.5	-	-	-

<sup>1</sup> SU= tratamento sem a adição de ureia; UP= tratamento com ureia coberta com polímero biodegradável; UCC= tratamento com ureia protegida em microcápsulas de carbonato de cálcio; UCOM= tratamento com ureia comercial

A degradação *in vitro* da matéria seca não foi influenciada pela adição de nitrogênio às 3 e 6 horas de incubação (Tabela 2). As primeiras diferenças foram verificadas às 12 horas de iniciado o processo fermentativo, onde os tratamentos UCC e UCOM apresentaram os maiores valores de degradação (25.7 e 24.3%, respectivamente) que foram significativamente superiores (p>0.05) aos encontrados para os tratamentos SU (22.5%) e UP (22.1%). No horário final de incubação os tratamentos com

ureia de lenta liberação (UP e UCC) exibiram uma maior degradação da matéria seca ( $p < 0.05$ ) que os tratamentos sem ureia e com ureia comercial.

**Tabela 2.** Degradação *in vitro* da matéria seca (%) do capim King grass incubado com e sem a adição de ureia

Tratamento <sup>1</sup>	Horario de incubação, horas			
	3	6	12	24
SU <sup>2</sup>	16	16	22.5 <sup>a</sup>	32.6 <sup>b</sup>
UP	16.9	17	22.1 <sup>a</sup>	35.5 <sup>a</sup>
UCC	15.9	16.4	25.7 <sup>b</sup>	35 <sup>a</sup>
UCOM	16.9	17	24.3 <sup>b</sup>	32.8 <sup>b</sup>

<sup>1</sup> SU= tratamento sem a adição de ureia; UP= tratamento com ureia coberta com polímero biodegradável; UCC= tratamento com ureia protegida em microcápsulas de carbonato de cálcio; UCOM= tratamento com ureia comercial.

<sup>2</sup> Letras distintas nas colunas indicam valores estatisticamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

A liberação de nitrogênio medida pela concentração de amônia no meio (Tabela 3), mostrou que nas primeiras seis horas de incubação não houve diferenças estatísticas entre tratamentos com ureia ( $p > 0.05$ ). Já nas doze horas, a UCOM liberou maior quantidade de amônia (18.7 mg/dL) quando comparada com o tratamento UCC (11.2 mg/dL) ( $p < 0.05$ ). Esta mesma tendência foi verificada após 24 horas de incubação, a ureia comercial (UCOM) e a ureia coberta com polímero (UP) disponibilizaram a mesma quantidade de amônia ( $p > 0.05$ ), por sua parte a ureia protegida em microcápsulas (UCC) mostrou um maior grau de proteção ( $p < 0.05$ ) ao liberar a menor quantidade de amônia (8.6 mg/dL).

**Tabela 3.** Concentração de amônia (mg/dL) do capim King grass incubado com ureia tradicional e fontes de ureia de lenta liberação

Tratamento <sup>1</sup>	Horario de incubação, horas			
	3	6	12	24
SU <sup>2</sup>	12.7 <sup>b</sup>	13.6 <sup>b</sup>	5.2	5.1 <sup>c</sup>
UP	15.7 <sup>a</sup>	22.0 <sup>a</sup>	14.7 <sup>ab</sup>	14.2 <sup>a</sup>
UCC	20.5 <sup>a</sup>	23.1 <sup>a</sup>	11.2 <sup>b</sup>	8.6 <sup>b</sup>
UCOM	20.3 <sup>a</sup>	26.3 <sup>a</sup>	18.7 <sup>a</sup>	15.1 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> SU= tratamento sem a adição de ureia; UP= tratamento com ureia coberta com polímero biodegradável; UCC= tratamento com ureia protegida em microcápsulas de carbonato de cálcio; UCOM= tratamento com ureia comercial.

<sup>2</sup> Letras distintas nas colunas indicam valores estatisticamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

Nos primeiros horários de incubação (3 e 6 horas) não houve produção de gás. Já nas 12 horas o tratamento UCOM apresentou a menor produção com 11.0 ml, valor estatisticamente diferente dos registrados para os tratamentos SU, UCC e UP (Tabela 4). Com 24 horas de incubação foi possível evidenciar que a falta de nitrogênio no tratamento SU teria limitado o processo de fermentação, fato evidenciado quando se compara sua produção de gás com a registrada para os tratamentos com ureia.

**Tabela 4.** Volume de gás e produção de metano (CH<sub>4</sub>) durante a degradação *in vitro* de capim King grass incubado com e sem a adição de ureia

Tratamento <sup>1</sup>	Variáveis avaliadas <sup>2</sup>		
	Volume de gás, ml/ g de MSI	Produção de CH <sub>4</sub> , ml/g de MSI	Produção de CH <sub>4</sub> , ml/g de MSD
	<b>12 horas apos a incubação</b>		
SU	17.9 <sup>a</sup>	2.20 <sup>a</sup>	9.38 <sup>a</sup>
UCC	18.0 <sup>a</sup>	1.51 <sup>a</sup>	5.87 <sup>a</sup>
UCOM	11.0 <sup>b</sup>	1.24 <sup>a</sup>	4.98 <sup>a</sup>
UP	14.9 <sup>a</sup>	1.69 <sup>a</sup>	6.98 <sup>a</sup>
	<b>24 horas apos a incubação</b>		
SU	40.1 <sup>b</sup>	7.60 <sup>a</sup>	22.3 <sup>a</sup>
UCC	45.8 <sup>ab</sup>	7.47 <sup>a</sup>	21.2 <sup>a</sup>
UCOM	48.2 <sup>a</sup>	8.63 <sup>a</sup>	28.4 <sup>b</sup>
UP	46.2 <sup>a</sup>	8.51 <sup>a</sup>	23.8 <sup>ab</sup>

<sup>1</sup> SU= tratamento sem a adição de ureia; UP= tratamento com ureia coberta com polímero biodegradável; UCC= tratamento com ureia protegida em microcápsulas de carbonato de cálcio; UCOM= tratamento com ureia comercial.

<sup>2</sup> Letras distintas nas colunas indicam valores estatisticamente diferentes para um mesmo horário de incubação ( $p < 0.05$ ).

A produção de metano expressada como ml/ g de matéria seca incubada (MSI), foi semelhante entre tratamentos às 12 e 24 horas apos a incubação ( $p > 0.05$ ) (Tabela 4). Já quando a produção de metano foi relacionada com as gramas de matéria seca degradada (MSD), foi possível evidenciar que o tratamento UCOM registrou a maior produção de metano com 28.4 ml/g de MSD. Valor diferente do encontrado para os tratamentos SU (22.3 ml/g de MSD) e UCC (21.2 ml/g de MSD).

## Discussão

A ureia de lenta liberação teve um efeito significativo sobre a degradação da matéria seca indicando que a disponibilidade de nitrogênio limitou a atividade fermentativa dos microrganismos no caso do tratamento sem ureia (SU) (Tabela 2). Já no tratamento com ureia comercial (UCOM) a menor digestão observada pode ser atribuída à falta de sincronia entre as taxas de degradação dos carboidratos estruturais e a ureia. Johnson (1976) relata que a ureia de lenta liberação permite uma melhor sincronia entre a energia e o nitrogênio disponíveis no rúmen, o que origina um incremento na captura do nitrogênio ruminal na forma de proteína microbiana.

A maior degradação registrada nos tratamentos com ureia protegida esta associada a um melhor ambiente de fermentação o que teria favorecido o crescimento microbiano e sua atividade. Esta observação é consequente com os dados de Cherdthong et al (2011) que avaliando a mistura de ureia – cálcio em rações para vacas leiteiras consumindo palha de arroz, reportam aumentos na quantidade de bactérias celulolíticas estimadas por contagem direta (CFU/ml) e pela técnica de PCR em tempo real. Por sua parte, Galo et al (2003) não reporta mudanças na produção de proteína microbiana estimada pela excreção de derivados púricos em vacas leiteiras alimentadas com dietas TMR.

O emprego do nitrogênio pelos microrganismos ruminais pode ser evidenciado pela concentração de amônia no meio. Os valores observados no tratamento sem a adição de ureia (SU) estiveram por embaixo dos níveis recomendados como desejáveis (15 a 20 mg/dl) para uma máxima taxa de crescimento microbiano (Leng y Nolan 1984) (Tabela 3). Por outra parte, concentrações no meio ruminal acima de 20 mg/dl de amônia indicam que a taxa de hidrólise da ureia pode ser muito maior que a taxa de utilização da amônia pelas bactérias ruminais e levando consequentemente ao seu

acumulo no meio. A ureia de lenta liberação é hidrolisada a uma taxa menor que a ureia comercial e por tanto pode ser utilizada com maior eficiência pelos microrganismos ruminais.

Os tratamentos UP, UCC e UCOM permitiram um fornecimento contínuo de nitrogênio, sempre acima do mínimo recomendado para um ótimo crescimento microbiano (8 mg/dl) (Satter e Slyter 1974).

A eficiência de utilização do nitrogênio da dieta no rúmen é muito baixa, aproximadamente do 7.7% (Van der Hoek, 1998). No caso da ureia protegida a liberação controlada de amônia no rúmen permite uma melhor eficiência na utilização do nitrogênio pelos microrganismos, reduzindo assim, as quantidades que são eliminadas pelo animal na urina e nas fezes ao ambiente. A concentração de amônia no meio foi reduzida em 40% no tratamento UCC nos horários 12 y 24 horas, quando comparada com as concentrações registradas no tratamento com ureia comercial (UCOM) (Tabela 3). Prokop e Klopfenstein (1977) e Xin et al (2010) ao comparar fontes protegidas de ureia com ureia comercial, relatam diminuições nas concentrações de amônia no rúmen de 25.3 e 60.1%, respectivamente.

O limitado aporte de nitrogênio para os microrganismos ruminais tem sido associado com uma redução no consumo e na digestibilidade da dieta (Griswold et al 2003). Porém, a eficiência com que o nitrogênio é utilizado pelas bactérias não depende unicamente da sua concentração, sino também da disponibilidade de energia e da sincronia nas suas taxas de degradação. A maior degradação da matéria seca e as menores concentrações de amônia no ambiente de fermentação observadas no tratamento UCC seriam evidência de uma maior eficiência de crescimento e digestão.

Um outro indicador da eficiência do processo de fermentação ruminal é a produção de metano (ml) expressada em função da quantidade de matéria seca degradada (g) (Tabela 4). O tratamento com ureia protegida em microcápsulas de carbonato de cálcio (UCC) apresentou a menor produção de metano quando comparada com o tratamento com ureia comercial (UC) mostrando que a energia do alimento foi empregada para o crescimento microbiano antes do que para a produção de metano.

## **Conclusão**

As fontes de ureia de lenta liberação foram mais eficientes que a ureia comercial para atingir uma maior degradação da matéria seca e melhorar a utilização do nitrogênio. Além disso, permitiram reduzir a produção de metano e amônia potenciais poluentes do meio ambiente.

## **Agradecimentos**

Os autores agradecem ao Departamento de Ciência Tecnología e Innovación COLCIENCIAS pelo apoio para o desenvolvimento desta pesquisa através do projeto “Efecto de la suplementación con arbóreas y subproductos agroindustriales sobre la eficiencia energética y la emisión de gases de efecto invernadero en ganado cebú” (código: 1115-563-33853).

## **Bibliografía**

- Castro F B, Selmer-Olsen I, Ørskov E R and Johnsen F 1999** Lignin as a carrier for feed grade controlled-release urea. V. In: Proceedings of the International Symposium of the Nutrition of Herbivores, 11–16 April, San Antonio, TX, USA, 836 pp.
- Cherdthong A, Wanapat M and Wachirapakorn C 2011** Influence of urea calcium mixture supplementation on ruminal fermentation characteristics of beef cattle fed on concentrates containing high levels of cassava chips and rice straw. *Animal Feed Science and Technology* 163:43–51.
- Church D C y Pond W G 1994** Fundamentos de nutrición y alimentación de animales. Editorial Limusa. México. 438 p.
- Deyoe C 1968** An improved urea product for ruminants. *Journal of Animal Science* 27: 1163.
- Fonnesbeck P V, Kears L C and Harris L E 1975** Feed Grade Biuret as a Protein Replacement for Ruminants. A Review. *Journal of Animal Science* 40: 1150- 1184.
- Frank B, Persson M and Gustafsson G 2002** Feeding dairy cows for decreased ammonia emission. *Livestock Production Science* 76: 171-179.
- Galo E, Emanuele S, Sniffen C, White J and Knapp J 2003** Effects of a polymer- coated urea product on nitrogen metabolism in lactating Holstein dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 86: 2154-2162.
- Griswold K E, Apgar G A, Bouton J and Firkins J L 2003** Effect of urea infusion and ruminal degradable protein concentration on microbial growth, digestibility, and fermentation in continuous culture. *Journal of Animal Science* 81: 329-336.
- Holder V B 2012** The effects of slow release urea on nitrogen metabolism in cattle. Theses and Dissertations – Animal and Food Science. University of Kentucky. [http://uknowledge.uky.edu/animalsci\\_etds/6](http://uknowledge.uky.edu/animalsci_etds/6)
- IDEAM (Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales) 1999** Cartas climatológicas mensuales, Aeropuerto Olaya Herrera (Medellín). Disponible en <http://bart.ideam.gov.co/cliciu/mede/temperatura.htm> (Consultado 25 jun. 2015)
- Johnson R R 1976** Influence of Carbohydrate Solubility on Non-protein Nitrogen Utilization in the Ruminant. *Journal of Animal Science* 43: 184-191.
- Leng R A and Nolan J V 1984** Nitrogen metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science* 67: 1072-1089.
- Marini J C and Van Amburgh M E 2005** Partition of Nitrogen Excretion in Urine and the Feces of Holstein Replacement Heifers. *Journal of Dairy Science* 88: 1778- 1784.
- Posada S L, Noguera R R and Bolívar D 2006** Relación entre presión y volumen para la implementación de la técnica *in vitro* de producción de gases. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 19:407 – 414.
- Posada S, Noguera R R and Segura J A 2012** Ruminantfecesused as inoculum for the *in vitro* gas production technique. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 25: 592-602.
- Posada S L, Ramirez F y Noguera R R 2014** Producción de metano y digestibilidad de mezclas kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) - papa (*Solanumtuberosum*). *Agronomía Mesoamericana* 25: 141 - 150
- Preston T R 1995** Tropical Animal Feeding. Paper 126, FAO. Animal Production and Health. Roma. Pp. 83 -108
- Preston T R and Leng R A 1986** Matching Livestock Production System to Available Resources. International Livestock Center for Africa (ILCA). Addis Adeba, Ethiopia. 331 pp.
- Prokop M J and Klopfenstein T J 1977** Slow ammonia release urea. Nebraska Beef Cattle Report No. EC 77-218 Nebraska.
- Sas.com 2015** Free Statistical Software, SAS University Edition. [online] Available at: [http://www.sas.com/en\\_us/software/university-edition.html](http://www.sas.com/en_us/software/university-edition.html) [Accessed 30 Jul. 2015].
- Satter L D and Slyter L L 1974** Effect of ammonia concentration of rumen microbial protein production *in vitro*. *The British Journal of Nutrition* 32: 199-208. □
- Silva D J 1990** Análise de alimentos. Métodos químicos e biológicos. Universidad Federal de Viçosa. Minas Gerais.
- Tomlinson A, Powers W, Van Horn H, Nordstedt R and Wilcox C 1996** Dietary protein effects on nitrogen excretion and manure characteristics of lactating cows. *Transactions of the ASAE* 39: 1441-1448.
- Van der Hoek K W 1998** Nitrogen efficiency in global animal production. *Environmental Pollution* 102: 127-132.



**Xin H S, Schaefer D M, Liu Q P, Axe D E and Meng Q X 2010** Effects of polyurethane coated urea supplement on *in vitro* ruminal fermentation, ammonia release dynamics and lactating performance of Holstein dairy cows fed a steam-flaked corn-based diet. Asian-Australasian Journal of Animal Science 23: 491-500.

*Received 31 July 2015; Accepted 27 October 2015; Published 1 November 2015*