

**SAMANTHA GUSMÃO PELLIZZONI**

**ESTIMATIVA DA EXCREÇÃO URINÁRIA DE DERIVADOS DE PURINAS A  
PARTIR DO CONSUMO DE NDT E DETERMINAÇÃO DA CONTRIBUIÇÃO  
ENDÓGENA EM VACAS DE LEITE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2011**

**SAMANTHA GUSMÃO PELLIZZONI**

**ESTIMATIVA DA EXCREÇÃO URINÁRIA DE DERIVADOS DE PURINAS A  
PARTIR DO CONSUMO DE NDT E DETERMINAÇÃO DA CONTRIBUIÇÃO  
ENDÓGENA EM VACAS DE LEITE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 11 de Março de 2011.

---

Prof. Sebastião de C. Valadares Filho  
(Coorientador)

---

Prof. Douglas dos Santos Pina

---

Profa. Rilene Ferreira Diniz Valadares  
(Orientadora)

``Boas vibrações prá vocês  
Que me ajudam a seguir meu caminho  
Obrigado aos amigos da terra e do céu  
Ninguém faz nada sozinho..``

Fabio Jr.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, nosso pai celestial e ao nosso amado mestre Jesus, por me inspirar e me conduzir sempre com sua luz divina no caminho e na prática do bem, fortalecendo-me nas indecorrências e auxiliando-me a alcançar os objetivos desejados com serenidade e paz.

A minha amada e tão querida família (Mamys Ariana, Vó Aziza ``Zizinha``, Bizinha Ana Rosa``Sinhana``, irmãs Roberta ``Beta``, Thâmis ``Buia``, Iasmim ``Minhoca`` e a nossa pequena Ludymila) pelo amor acolhedor, pelas palavras e gestos de carinho e incentivo durante toda a minha caminhada.

Ao meu namorado Leandro``b``, por todo amor, companherismo, apoio e compreensão.

A Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Medicina Veterinária, pelo apoio e oportunidade na realização deste curso.

Ao Departamento de Zootecnia e a Unidade de Ensino e Pesquisa e Extensão em Gado de Leite (UEPE-GL), pela infra-estrutura oferecida para a condução do experimento.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao INCT de Ciência Animal, pela concessão da bolsa de estudo e financiamento dessa pesquisa.

Em especial à professora Rilene Ferreira Diniz Valadares, pelos grandes ensinamentos, pela orientação, confiança, oportunidade, aprendizado e aperfeiçoamento pessoal e profissional.

Ao professor Sebastião de Campos Valadares Filho, pelas sugestões valiosas, pelos ensinamentos e contribuição na condução dessa pesquisa.

Ao Professor Douglas dos Santos Pina, por toda dedicação, pelos conhecimentos transferidos, pela ajuda, paciência e amizade.

A todos os funcionários do DZO e UEPE-GL, pela disposição e a pronta disponibilidade em auxiliar sempre quando requisitado, em especial Sr. Monteiro ``Montes``, Sr. Joelcio, Plinio, Edson da xerox, Sr. Adilson, Amigão da Biblioteca, Evaldo e Olhos de Mel.

Aos funcionários do DVT, principalmente a Rose, pelos lembretes e informações dadas sempre de forma prestimosa e eficiente e Sr. Divino pelo auxílio no período experimental, pela boa companhia e conversas agradáveis.

A todos que contribuíram para realização e conclusão deste trabalho em especial as valiosas amizades construídas no decorrer deste mestrado que me auxiliaram nesta jornada, serão sempre lembradas com muito carinho, Je Jezinha (companheira de jornada em todos os momentos, das alegres cantorias durante esta caminhada, minha guia turística Viçosa..rsrs), Lisa``Macaca``, Amandinha, Sokis, Fabis, Carlinha, Renatetis, Luciana ``Lulujournal``, Izabelzinha, Virginia, Stefanie, Dayane ``Zoiu``, Tati, Laura, Lays, Eriton, Christian, Oréa, Pablo, Faider, Ricardo, Leonardo, Gustavo ``Glu Glu``, Luiz Fernando, Diego ``Zanetti``, Marcelo, Danilo, Mozart, Bruno, Matheus e Toquinho.

As meninas da Republica Índias: Tatê, Lina, Line e Van pelo acolhimento, amizade, cumplicidade e gargalhadas.

Enfim, sou imensamente grata a todos vocês.

## **BIOGRAFIA**

SAMANTHA GUSMÃO PELLIZZONI, filha de Ariana Gusmão Pellizzoni e Roberto Pellizzoni, nasceu na cidade do Rio de Janeiro, estado do Rio de Janeiro, em 14 de maio de 1986.

Em 2004, iniciou o curso de graduação em Medicina Veterinária, na Universidade Estadual de Santa Cruz, colando grau em fevereiro de 2009.

Em março de 2009, ingressou no programa de Pós-Graduação da Universidade Federal de Viçosa, em nível de mestrado, pelo Departamento de Medicina Veterinária, concentrando seus estudos na área de produção de ruminantes, submetendo-se à defesa de dissertação em 11 de março de 2011.

## CONTEÚDO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	ix
INTRODUÇÃO.....	1
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	7
Estimativa da excreção urinária de derivados de purina a partir do consumo de NDT e determinação da contribuição endógena em vacas de leite.....	12
RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	13
INTRODUÇÃO.....	14
MATERIAIS E MÉTODOS.....	16
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
CONCLUSÕES.....	43
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	44

## RESUMO

PELLIZZONI, Samantha Gusmão, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2011. **Estimativa da excreção urinária de derivados de purinas a partir do consumo de NDT e determinação da contribuição endógena em vacas de leite.** Orientadora: Rilene Ferreira Diniz Valadares. Coorientadores: Sebastião de Campos Valadares Filho e Marcos Inácio Marcondes.

Objetivou-se estimar a excreção urinária de derivados de purinas a partir do consumo NDT e determinar a contribuição endógena em vacas de leite. O experimento foi realizado na unidade de ensino, pesquisa e extensão em gado de leite (UEPE-GL) durante o mês de março de 2010. Utilizaram-se doze vacas da raça Holandesa, puras e mestiças, alocadas em delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos em função da produção de leite, que foram determinadas como Alta, Média e Baixa seguindo as seguintes faixas de produção: 33,50, 18,42 e 11,07 kg de leite/dia, respectivamente. A dieta foi constituída de silagem de milho à vontade e concentrado fornecido na proporção de um kg para cada três kg de leite produzido. O período experimental teve duração de 15 dias, sendo sete para adaptação e oito dias para realização das coletas de urina, fezes, sangue e leite, bem como para avaliação do consumo e digestibilidade aparente. As ordenhas foram realizadas em dois horários, às 6:00 h e 16:00 h. Os resultados foram avaliados por meio de análises de variância, utilizando-se nível de 5% de probabilidade para o erro tipo I, por intermédio do programa SAS, sendo utilizado o teste de T para comparação de médias. As relações entre as excreções diárias dos derivados de purinas e os consumos de nutrientes digestíveis totais (CNDT), de matéria orgânica digestível (CMOD) e de matéria seca (CMS) foram avaliadas através do modelo de regressão linear simples. Não houve diferença ( $P>0,05$ ) para os teores de lactose e gordura do leite, porém, o percentual de proteína foi superior para vacas de baixa produção ( $P<0,05$ ). Os consumos de todos os

nutrientes, exceto o de fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDN<sub>cp</sub>) e fibra insolúvel em detergente neutro indigestível (FDN<sub>i</sub>), foram maiores para os animais de maior produção. As digestibilidades da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta, e carboidratos não fibrosos e os teores de nutrientes digestíveis totais (NDT) não diferiram entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ), enquanto que as digestibilidades do extrato etéreo e da FDN<sub>cp</sub>, foram influenciadas pelo nível de produção de leite, sendo menores para vacas de Alta produção. Os teores de nitrogênio uréico no plasma e no leite e a excreção de compostos nitrogenados (N) na urina foram altamente correlacionados e superiores ( $P < 0,05$ ) para animais mais produtivos, indicando que a concentração variou com o nível de produção de leite. As excreções urinárias dos derivados de purinas (DP) e uréia, bem como as relações de alantoina:creatinina, ácido úrico:creatinina, derivados de purina:creatina e uréia:creatinina, quando comparadas entre os diferentes tempos de coleta *spot* de urina e coleta total de urina durante 24 horas, não apresentaram diferença significativa ( $P > 0,05$ ). A síntese ruminal de proteína bruta microbiana e a excreção de DP foram relacionadas com o consumo de NDT e de matéria orgânica digestível (MOD), sendo obtidos 23,48 mmol de DP para cada kg de NDT consumido e 25,50 mmol de DP para cada kg de MO digestível, sendo possível observar que ambas as relações podem ser utilizadas para realizar estas estimativas. A coleta *spot* pode ser utilizada para estimar a excreção diária de derivados de purinas e de uréia na urina em vacas, independentemente do nível de produção. Tanto a utilização do consumo de NDT quanto de MOD podem ser utilizados com o intuito de estimar os derivados de purinas urinários. Considerando a excreção de DP em  $\text{mmol/kgPC}^{0,75}$  e o consumo de matéria seca expresso em  $\text{g/kg PC}^{0,75}$ , obteve-se o valor da fração endógena de DP de 0,237  $\text{mmol/kgPC}^{0,75}$ .

## ABSTRACT

PELLIZZONI, Samantha Gusmão, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, march, 2011. **Estimation of urinary excretion of derivatives of purine from the consummate of NDT and determination of the contribution in endogenous milk cows.** Adviser: Rilene Ferreira Diniz Valadares. Co-Advisors: Sebastião de Campos Valadares Filho and Marcos Inácio Marcondes.

The objective was to estimate the urinary excretion of purine from the TDN consumption and determine the endogenous contribution in dairy cows. The experiment was conducted at the Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Gado de Leite (UEPE-GL) during the month of March 2010. Twelve Holstein cows purebred and crossbred, allocated in a completely randomized design with three treatments based on production of milk, which were assessed as high, medium and low bands by taking the following production: 33,50; 18,42 and 11.07 kg of milk / day, respectively. The diet consisted of corn silage ad libitum and concentrate fed at a rate of one kilogram for every three pounds of milk produced. The experimental period lasted 15 days, seven to eight days for adaptation and implementation of collection of urine, faeces, blood and milk, as well as to evaluate the consumption and digestibility. Milkings were carried out in two hours, from 6:00 h and 16:00 h. The results were evaluated by analysis of variance, using the 5% level of probability of type I error, through the SAS, by using the t test to compare means. Relations between the daily excretion of purine derivatives and the consumption of total digestible nutrients (TDNI), digestible organic matter intake (DOMI) and dry matter intake (DMI) were assessed using linear regression. No significant differences ( $P>0.05$ ) for lactose and milk fat, however, the percentage of protein was higher for cows with low production ( $P<0.05$ ). Intakes of all nutrients, except for neutral detergent fiber corrected for ash and protein (NDF) and neutral detergent fiber indigestible (NDFi) were higher for animals for higher production. The

digestibility of dry matter (DM), organic matter (OM), crude protein, and non-fiber carbohydrates and contents of total digestible nutrients (TDN) did not differ between treatments ( $P > 0.05$ ), whereas the digestibility of ether extract and NDF were influenced by the level of milk production, and lower for cows of high production. The levels of urea nitrogen in plasma and milk and excretion of nitrogenous (N) in urine were highly correlated and higher ( $P < 0.05$ ) for more productive animals, indicating that the concentration varied with the level of milk production. Urinary excretions of purine derivatives (PD) and urea, as well as the relations of allantoin: creatinine, uric acid, creatinine, purine derivatives, creatine and urea, creatinine, when compared between different times of collection and spot urine collection total urine for 24 hours, no significant difference ( $P > 0.05$ ). The synthesis of ruminal microbial crude protein and excretion of PD were associated with intake of TDN and digestible organic matter (DOM), being raised from 23.48 mmol of SD for each kg of TDN consumed, 25.50 mmol SD for each kg of digestible organic matter, revealing that both relations can be used to make these estimates. The gathering spot can be used to estimate the daily excretion of purine derivatives and urea in the urine of cows, regardless of the level of production. Both the use of TDN intake and consumption of MOD can be used in order to estimate the urinary purine derivatives. Whereas the excretion of PD in  $\text{mmol/kgPC}^{0.75}$  and dry matter intake expressed as  $\text{g/kg PC}^{0.75}$ , obtained the value of the fraction of endogenous DP  $\text{mmol/kgPC}0.237^{0.75}$ .

## INTRODUÇÃO

A alta correlação entre produção animal e ingestão de alimentos decorre do fato de que o consumo de alimentos é o principal determinante do ingresso de nutrientes para o atendimento das exigências de manutenção e produção dos animais. A acurácia da predição do consumo de MS é fundamental na formulação de dietas para o correto atendimento das exigências nutricionais (Chizzotti et al., 2007).

O consumo de matéria seca e a concentração energética da dieta são altamente correlacionados, de forma que, dietas com baixa digestibilidade, e conseqüentemente baixo teor de energia limitam o consumo por enchimento do rúmen e/ou diminuição na taxa de passagem, enquanto o consumo de dietas ricas em energia e de Alta digestibilidade limita a ingestão por atendimento às exigências energéticas do animal e por fatores metabólicos (NRC, 1996).

O crescimento microbiano no rúmen é influenciado pela interação entre fatores químicos, fisiológicos e nutricionais. A disponibilidade energética é apontada como fator limitante para o crescimento microbiano. Esta disponibilidade de energia, por sua vez, depende da composição da dieta e da extensão da fermentação ruminal da mesma (Hoover & Stokes, 1991).

A maior parte dos aminoácidos absorvidos pelos ruminantes é proveniente da proteína bruta microbiana sintetizada no rúmen. Os métodos utilizados para medir a quantidade de compostos nitrogenados microbianos baseiam-se em indicadores microbianos internos, como bases purinas e ácido 2,6 diaminopimélico (DAPA), e externos, como o  $^{35}\text{S}$  e o  $^{15}\text{N}$  (Broderick & Merchen, 1992). Entretanto, estes métodos requerem a utilização de animais cirurgicamente adaptados e a determinação do fluxo de MS no abomaso.

A necessidade de desenvolvimento de técnicas não invasivas na experimentação animal favoreceu a utilização da excreção de derivados de purina (DP) na urina para a quantificação da produção ruminal de proteína bruta microbiana como alternativa à utilização de animais fistulados.

A estreita relação entre a produção microbiana no rúmen e a excreção de DP, primeiramente descrita por Blaxter e Martin, em 1962, e Topps e Elliot, em 1965 (Fujihara et al., 1987), foi confirmada por outros pesquisadores (Perez et al., 1996; Chen et al., 1997; Rennó et al., 2000; Orellana Boero et al., 2001; Belenguer et al., 2002; Gonzalez-Ronquillo et al., 2004), que verificaram que a excreção urinária de DP pode constituir método simples e não invasivo para estimar a produção de proteína microbiana no rúmen. Assim, o fluxo de N microbiano pode ser calculado a partir da quantidade de purinas absorvidas, que são estimadas a partir da excreção urinária dos DP (Chen & Gomes, 1992).

Os DP excretados na urina podem ser de origem endógena, proveniente do catabolismo dos ácidos nucleicos do animal ou derivados da degradação das purinas microbianas absorvidas no intestino delgado (Chen & Gomes, 1992).

No método baseado na excreção de DP considera-se que o fluxo duodenal de ácidos nucleicos é essencialmente de origem microbiana e, após a digestão intestinal dos nucleotídeos de purina, as bases adenina e guanina são catabolizadas e excretadas proporcionalmente na urina como DP, principalmente alantoína, mas também como xantina, hipoxantina e ácido úrico (Perez et al., 1996). Segundo Chen & Gomes (1992), na urina de bovinos, apenas alantoína e ácido úrico estão presentes, devido à grande atividade de xantina oxidase no sangue e nos tecidos, que converte xantina e hipoxantina a ácido úrico antes da excreção.

Em vacas lactantes, ocorre também a secreção de DP no leite, constituído em sua maior parte de alantoína e com alguma contribuição de ácido úrico, e, caso a secreção de DP no leite seja desconsiderada, a absorção de purinas pode ser subestimada.

Em princípio, apesar da excreção urinária de DP poder ser utilizada como indicador da síntese de proteína microbiana, alguns fatores utilizados no modelo e que afetam a excreção de DP ainda não estão completamente elucidados (Chen & Orskov, 2003). Entre eles estão a relação N purina: N total (NP/NT) nos microrganismos ruminais, a recuperação de purinas absorvidas e a excreção de derivados de purinas de origem endógena.

Em vacas lactantes, a proporção DP absorvidos no intestino delgado:DP recuperados na urina pode ser alterada se a excreção de DP pela glândula mamária for modificada pela produção de leite (Gonzalez-Ronquillo et al., 2003).

A existência de uma fração endógena nos DP excretados foi confirmada em diversos experimentos utilizando diferentes métodos. Valores, em  $\text{mmol/kgPC}^{0,75}$ , de 0,259 e 0,514 a 0,530 foram encontrados por Kirchgessner & Windish (1989) e Daniels et al. (1994) para vacas lactantes, citados por Gonzalez-Ronquillo et al. (2003), que reportaram média de 0,512 em vacas em diferentes estágios de lactação. Orellana Boero et al. (2001) estimaram menores excreções endógenas em vacas secas (0,236  $\text{mmol/kgPC}^{0,75}$ ) em relação aos citados para vacas em lactação. Em novilhos ou novilhas, Verbic et al. (1990), Fujihara et al. (1987) e Giesecke et al. (1993), citados por Orellana Boero et al. (2001), encontraram médias de 0,365; 0,455 e 0,489  $\text{mmol/kgPC}^{0,75}$ , respectivamente. As diferenças entre as observações encontradas na literatura são atribuídas à utilização de diferentes técnicas e a possíveis variações no metabolismo dos ácidos nucleicos em animais em diferentes estádios fisiológicos (crescimento, lactação, gestação e manutenção).

Considerando que existem controvérsias sobre a excreção endógena de DP, que no Brasil não foram encontrados trabalhos com vacas de leite e que apenas o trabalho de Barbosa et al. (2011) mediu a excreção em novilhos Nelore e encontrou valores de 0,24 a 0,30 mmol/kgPC<sup>0,75</sup>, torna-se importante que mais experimentos sejam conduzidos para avaliar essa excreção em vacas lactantes.

Para estimar a excreção endógena de DP, a utilização do intercepto da equação de regressão linear entre a excreção de derivados de purina na urina e os níveis de ingestão de matéria seca não se mostrou método adequado em ovinos (Chen et al., 1990), uma vez que a relação entre a excreção de DP e a absorção de purinas não é linear. Entretanto, em bovinos essa relação seria aproximadamente linear (Chen & Gomes, 1992), possibilitando sua aplicação.

Segundo Valadares Filho et al. (2006), nos atuais sistemas de avaliação de proteína para ruminantes, a produção microbiana é calculada a partir da quantidade de energia ou matéria orgânica degradável, aplicando-se fatores fixos ou variáveis para a produção microbiana por unidade de energia ou matéria orgânica degradada. Mo et al. (2004); Soejono et al. (2004) e Barbosa et al. (2011) encontraram a relação linear positiva entre a excreção urinária de DP e o consumo MO digestível, em kg/dia.

Para imprimir ampla faixa de variação da síntese microbiana no rúmen, Gonzalez-Ronquillo et al. (2004) manipularam a ingestão de matéria seca de vacas lactantes de 75 a 100% da ingestão voluntária. A ampliação da excreção urinária de DP, de 266,5 a 314,0 mmol/dia, refletiu as diferenças produzidas pelos tratamentos.

As estimativas dos requerimentos de proteína dietética para ruminantes são complexas, em função das alterações a que estas são submetidas no rúmen e, portanto, devem considerar além das exigências de proteína para o animal, o requerimento de N e de energia para a síntese de proteína bruta microbiana. Os teores de nitrogênio uréico

plasmático (NUP) e nitrogênio uréico no leite (NUL) têm sido utilizados com a finalidade de fornecer informações adicionais sobre o *status* da nutrição protéica de ruminantes, envolvendo a resposta metabólica destes a determinada dieta. Desta forma podem-se evitar as perdas econômicas advindas do fornecimento inadequado de proteína na dieta e os possíveis prejuízos produtivos, reprodutivos e ambientais (Chizzotti et al., 2007).

A uréia plasmática equilibra-se rapidamente entre os compartimentos líquidos do organismo, incluindo o leite; admite-se que a concentração de N-uréico no leite (NUL) reflete a concentração de N-uréico plasmático (NUP) (Broderick & Clayton, 1997) e a concentração de uréia no leite pode ser considerado um indicador do metabolismo protéico em vacas (Roseler et al., 1993; Jonker et al., 1998; e Shepers & Meijer, 1998).

Quando NUL ou NUP excedem 19-20 mg/dL, a taxa de concepção pode ser reduzida em aproximadamente 20% (Butler et al., 1995). Broderick (1995) sugeriu que uma variação de NUL de 12 a 17 mg/dL indica um ótimo balanceamento de proteína degradada e energia fermentada no rúmen. Outros estudos propõem que os valores ideais devam se situar entre as faixas de 12 e 16 mg/dL (Hutjens, 1996; Jonker et al., 1998), 10 e 14 mg/dL (Moore et al., 1996; Ferguson, 2001) ou 10 e 16 mg/dL (Jonker et al., 1998).

O método baseado na excreção de DP requer coleta total de urina. Segundo Barbosa et al. (2006), o período de coleta de urina de 24 horas é suficiente para a avaliação da excreção urinária diária de DP em bovinos Nelore, independentemente de serem novilhas, machos castrados, machos não-castrados ou vacas em lactação. Segundo Valadares et al. (1997), é possível simplificar a coleta de urina utilizando-se a excreção de creatinina na urina como indicador da produção urinária diária. Assim, pode-se coletar uma amostra isolada, denominada amostra *spot*, o que pode simplificar

a estimação da produção de urina em condições de campo. Pereira (2009) sugere duas coletas *spot* de urina, às 8h00 e às 16h00 ou imediatamente após o fornecimento das dietas, para estimar as excreções de compostos nitrogenados. A utilização da amostra *spot* se baseia na relativa constância da excreção de creatinina por unidade de peso vivo.

Estimando-se a excreção diária de creatinina a partir do peso vivo, o volume urinário pode ser calculado pela concentração de creatinina na amostra *spot*. Rennó et al. (2000), trabalhando com novilhos de diferentes grupos genéticos, não verificaram diferença nas excreções de derivados de purinas estimadas a partir de coletas *spot* ou de 24h de duração.

A eficiência de produção de proteína bruta microbiana e o fluxo microbiano são fatores determinantes da fração protéica que alcança o intestino delgado. A proteína bruta microbiana sintetizada no rúmen possui excelente perfil de aminoácidos e composição pouco variável (NRC, 2001). Assim, a avaliação da síntese protéica microbiana ruminal é de grande relevância, pois está diretamente associada ao desempenho animal.

Dessa forma, o presente trabalho foi conduzido com vacas de diferentes níveis de produção de leite com os objetivos de estimar a excreção endógena de DP, desenvolver equações para estimar a excreção urinária de DP a partir do consumo de energia e avaliar os consumos e as digestibilidades dos nutrientes.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- BARBOSA, A. M. ; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. C.; PINA, D. S.; DETMANN. E.; LEÃO. M. I. Endogenous fraction and a urinary recovery of purine derivatives obtained by different methods in Nellore cattle. **Journal of Animal Science**, v.89, p. 510-519, 2011.
- BARBOSA, A.M.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. C.; VÉRAS, R. M. L.; LEÃO, M.I.; DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; MARCONDES, M.I.; SOUZA, M.A. Efeito do período de coleta de urina, dos níveis de concentrado e de fontes protéicas sobre a excreção de creatinina, de uréia e de derivados de purina e a produção microbiana em bovinos Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.870-877, 2006.
- BELONGUER, A.; YAÑEZ, D.; BALCELLS, J.; OZDEMIR BABER, N.H.; GONZALEZ RONQUILLO, M. Urinary excretion of purine derivatives and a prediction of rúmen microbial outflow in goats. **Livestock Production Science**, v.77, p. 127-135, 2002.
- BRODERICK, G.A. Use of milk urea as an indicator of nitrogen utilization in lactating dairy cow. USDA, Agricultural Research Service. US Dairy Forage Research Center, **Research Summaries**, p.122, 1995.
- BRODERICK, G. A.; CLAYTON, M. K. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.11, p.2964-2971, 1997.
- BRODERICK, G.A.; MERCHEN, N.R. Markers for quantifying microbial protein synthesis in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.9, p.2618–2632, 1992.

- BUTLER, W.R.; CHERNEY, D.J.R.; ELROD, C.C. Milk urea nitrogen (MUN) analysis: field trial results on conception rates and dietary inputs. In: CORNELL PROCEEDINGS CONFERENCE, 1., 1995. Ithaca. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, p.89 – 95 1995.
- CHEN, X. B.; FUJIHARA, T.; NAKAMURA, K.; MAWUENYEGAH, P. O.; FRANKLIN, M. F.; KYLE, D.J. Response of urinary and plasma purine derivatives to various rates and infusion patterns of purines in sheep nourished by intragastric infusion. **Journal of Agricultural Science**, v. 129, p. 343-352, 1997.
- CHEN, X. B.; ORSKOV, E. R. Research on urinary excretion of purine derivatives in ruminants: past, present and future. **International Feed Resources Unit**, Macaulay Land Use Research Institute, Craigiebuckler, Aberdeen AB15 8QH, United Kingdom. 2003.
- CHEN, X. B.; ORSKOV, E. R.; HOVELL, F. D. D. Excretion of purine derivatives by ruminants: endogenous excretion, differences between cattle and sheep. **British Journal of Nutrition**, v.63, n. 1, p. 121-129, 1990.
- 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 (Occasional publication). **International Feed Resources Unit**. Bucksburn, Aberdeen:Rowett Research Institute. p.21, 1992.
- CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D.; MARTINS CHIZZOTTI, F. H.; MARCONDES, M. I.; FONSECA, M. A. Consumo, digestibilidade e excreção de ureia e derivados de purinas em vacas de diferentes níveis de produção de leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.138-146, 2007.

- FUJIHARA, T.; ORSKOV, E.R.; REEDS, P.J.; KYLE, D. J . The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agricultural Science**, v.109, n.1, p.7-12, 1987.
- FERGUSON, J. D. Milk urea nitrogen. Center for Animal Health and Productivity, 2001, [www.vet.upenn.edu/mun/mun-info.html](http://www.vet.upenn.edu/mun/mun-info.html), (20/03/2003).
- GONZALEZ-RONQUILLO, M.; BALCELLS, J.; BELENGUER, A.; CASTRILLO, C.; MOTA, M. A comparison of purine derivatives excretion with conventional methods as indices of microbial yield in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.2211-2221, 2004.
- GONZALEZ-RONQUILLO, M.; BALCELLS, J.; GUADA, J.A.; VICENTE, F. Purine derivative excretion in dairy cows: Endogenous excretion and the effect of exogenous nucleic acid supply. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.4, p.1282-1291, 2003.
- HOOVER, W.H.; STOKES, S.R. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3630-3644, 1991.
- HUTJENS, M.F. MUN as a management tool. 1996.  
[www.aces.uiuc.edu/~ansystem/dairyrep96/Hutjens](http://www.aces.uiuc.edu/~ansystem/dairyrep96/Hutjens). (20/03/2003).
- JONKER, J. S.; KOHN, R. A.; ERDMAN, R. A. Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.81, n.10, p.2681-2692, 1998.
- MO, F.; WANG, Y.X.; XING, Z.; YANG, Y.F. CHEN, X. B. The effect of different levels of feed intake on the urinary excretion of purine derivatives in Chinese yellow cattle. In: MAKKAR, H.P.S and CHEN, X.B. **Estimation of microbial protein Supply in ruminants using purine derivatives**, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p.56-62, 2004.

- MOORE, D. A.; VARGA, G. BUN and MUN: Urea nitrogen testing in dairy cattle. **Compendium Continuing Education Veterinary**, v.18, n.6, p.712-721, 1996
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washington, D. C: Natinal Academic Press, p. 381, 2001.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C.:National Academy, p.242, 1996.
- ORELLANA BOERO, P.; BALCELLS, J.; MARTÍN-ORÚE, S.M.; LIANG, J.B.; GUADA, J.A. Excretion of purine derivatives in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. **Livestock Production Science**, v.68, p.243-250, 2001.
- PEREIRA, V. S. A. **Influência do peso corporal e das características de carcaça sobre a excreção de creatinina e utilização de coleta *spot* de urina para estimar a excreção de derivados de purina e de compostos nitrogenados em novilhas nelore**. 2009. 51f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais.
- PEREZ, J.F., BALCELLS, J., GUADA, J.A. Determination of rumen microbial nitrogen production in sheep: a comparison of urinary purine excretion with methods using <sup>15</sup>N and purine bases as markers of microbial-nitrogen entering the duodenum. **British Journal of Nutrition**, 75:699-709. 1996.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C.; LEÃO, M.I.; SILVA, J.F.C.; CECON, P. R.; GONÇALVES, L. C.; DIAS, H. L. C.; LINHARES, R.S. Concentração plasmática de uréia e excreções de uréia e creatinina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.1235-1243, 2000.

- ROSELER, D. K., FERGUSON, J. D. , SNIFFEN, C. J. Dietary protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk non protein nitrogen in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.76, p. 525-534, 1993.
- SCHEPERS, A. J., MEIJER, R.G.M. Evaluation of the utilization of dietary nitrogen by dairy cows based on urea concentration in milk. **Journal of Dairy Science**, v. 81 p, 579-584, 1998.
- SOEJONO, M.; YUSIATI, L.M.; BUDHI, B.P. et al. Purine derivative excretion and recovery of <sup>14</sup>C-uric acid in urine of Ongole cattle given different levels of feed intake. In: MAKKAR, H.P.S and CHEN, X.B. **Estimation of microbial protein Supply in ruminants using purine derivatives**, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p.56-62, 2004.
- VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, P.V.R.; MAGALHÃES, K.A. Exigências nutricionais de zebuínos e tabelas de composição de alimentos – **BR CORTE**. 1 ed. Viçosa : UFV, Suprema Gráfica Ltda. p.142, 2006.
- VALADARES, R.F.D.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUEZ, N.M. Níveis de proteína em dietas de bovino. 4. 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.

## RESUMO

Objetivou-se estimar a excreção urinária de derivados de purina a partir do consumo de NDT e determinar a contribuição endógena em vacas de leite. Utilizaram-se 12 vacas da raça Holandesa, puras e mestiças, alocadas em delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos: 33,50; 18,42 e 11,07 kg de leite/dia, respectivamente. A dieta foi constituída de silagem de milho à vontade e concentrado ofertado na proporção de um kg de concentrado para cada três kg de leite produzido. O período experimental teve duração de 15 dias, sendo sete de adaptação e oito dias para as coletas de fezes, urina, sangue e leite. A fração endógena de derivados de purina (DP) foi obtida pela relação entre a excreção urinária de DP ( $\text{mmol/kgPC}^{0,75}$ ) e o consumo de matéria seca ( $\text{g/kgPC}^{0,75}$ ). Os consumos de todos os constituintes dietéticos, exceto o de fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp) e fibra insolúvel em detergente neutro indigestível (FDNi), foram maiores para os animais de maior produção ( $P < 0,05$ ). O total de nutrientes digestíveis (NDT) e as digestibilidades dos constituintes da dieta, com exceção do extrato etéreo e da FDNcp, não diferiram entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ). As excreções dos derivados de purinas (DP) e uréia na urina, bem como as relações de alantoina:creatinina, ácido úrico:creatinina, DP:creatinina e uréia: creatinina não diferiram ( $P > 0,05$ ) quando se compararam os diferentes tempos de coleta *spot* de urina com a coleta total de 24 horas. Foram obtidos 23,48 mmol de DP/kg de NDT e 25,50 mmol de DP/kg de MOD. Conclui-se que coleta *spot* de urina obtida em diferentes horários pode ser utilizada para estimar as excreções diárias de DP e de uréia, e que a fração endógena de DP é de  $0,237 \text{ mmol/kgPC}^{0,75}$ .

**Palavras-chave:** Ácido úrico, Alantoína, Produção de leite, Proteína microbiana.

## ABSTRACT

The objective was to estimate the urinary excretion of purine from the TDN intake and determine the endogenous contribution in dairy cows. We used 12 Holstein cows, purebred and crossbred allocated in a randomized design with three treatments: 33.50, 18.42 and 11.07 kg of milk / day, respectively. The diet consisted of corn silage and concentrate offered ad libitum at a rate of one kg of concentrate for every three pounds of milk produced. The experimental period lasted 15 days, seven and eight days of adaptation to the collection of feces, urine, blood and milk. The fraction of endogenous purine derivatives (PD) was obtained by the relationship between the urinary excretion of PD ( $\text{mmol/kgPC}^{0.75}$ ) and dry matter intake ( $\text{g/kgPC}^{0.75}$ ). The intake of dietary constituents all except the neutral detergent fiber corrected for ash and protein (NDF) and neutral detergent fiber indigestible (NDFi) were higher for animals with higher production ( $P < 0.05$ ). The total digestible nutrients (TDN) and digestibility of dietary constituents except ether extract and NDF did not differ between treatments ( $P > 0.05$ ). The excretions of purine derivatives (PD) and urea in the urine as well as the relations of allantoin: creatinine, uric acid, creatinine, PD: creatinine and urea: creatinine did not differ ( $P > 0.05$ ) when comparing the different times collection of spot urine collection total of 24 hours. We obtained 23.48 mmol PD / kg TDN and 25.50 mmol PD/kg MOD. We conclude that spot urine collection obtained at different times can be used to estimate the daily excretion of PD and urea and the fraction of endogenous DP is  $0.237\text{mmol/kgPC}^{0.75}$

**Keywords:** Uric acid, Allantoin, Milk production, microbial protein.

## INTRODUÇÃO

A proteína bruta microbiana constitui, geralmente, grande proporção do fluxo duodenal de nitrogênio (N) aminoacídico nos ruminantes, podendo representar entre 40 e 90 % dos aminoácidos que chegam ao intestino delgado (Sniffen & Robinson, 1987). Considerado como objetivo básico dos estudos de alimentação de ruminantes, a determinação da síntese ruminal de proteína bruta microbiana, em virtude de seu excelente balanceamento de aminoácidos (Valadares Filho & Valadares, 2001), torna de fundamental importância o estudo de métodos para se estimar a produção de proteína microbiana de forma rápida, rotineira e não invasiva.

O método de excreção de DP assume que o fluxo duodenal de ácidos nucleicos é, predominantemente, de origem microbiana e, após digestão intestinal dos nucleotídeos de purinas, as bases nitrogenadas adenina e guanina são catabolizadas e excretadas, proporcionalmente, na urina como DP, principalmente alantoína, mas, também como xantina, hipoxantina e ácido úrico (Perez et al., 1996).

Em vacas lactantes, ocorre também pequena secreção de DP no leite, e caso essa secreção seja desconsiderada, a absorção de purinas pode ser subestimada em menos de 7% (Gonzalez-Ronquillo et al., 2003).

De acordo com Chen & Gomes (1992), a excreção urinária de DP, pelos ruminantes, pode ser usada para estimar o fluxo intestinal de proteína microbiana. A excreção urinária diária de DP pode ser obtida por coletas de urina com duração de 24 horas, e a partir de uma única amostra, denominada de amostra *spot*, geralmente coletada 4 horas após a alimentação (Rennó, 2003), utilizando-se a creatinina como indicador para estimar o volume urinário.

Considerando que existem controvérsias sobre a excreção endógena de DP, e que no Brasil não foram encontrados trabalhos com vacas de leite, torna-se importante que experimentos sejam conduzidos para avaliar essa excreção em vacas lactantes.

Dessa forma, o presente trabalho foi conduzido com vacas de diferentes níveis de produção com os objetivos de estimar a excreção endógena de DP, desenvolver equações para estimar a excreção urinária de DP a partir do consumo de energia e avaliar os consumos e as digestibilidades dos constituintes da dieta.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Gado de Leite (UEPE-GL) do Departamento de Zootecnia, da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa – MG, sendo a fase de campo realizada durante o mês de março de 2010.

Utilizaram-se 12 vacas da raça Holandesa, puras e mestiças, em sistema de confinamento total tipo *Tie Stall*, em baias individuais, providas de cocho e bebedouro. Os animais foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos em função do nível de produção de leite e quatro repetições:

Tratamento Baixa- quatro vacas com produção de leite média de  $11,07 \pm 2,04$  kg/dia.

Tratamento Média- quatro vacas com produção de leite média de  $18,42 \pm 2,17$  kg/dia.

Tratamento Alta- quatro vacas com produção de leite média de  $33,50 \pm 2,42$  kg/dia.

As vacas dos tratamentos Baixa, Média e Alta, estavam em média com 42, 32 e 10 semanas de lactação e pesavam em média 609, 548, e 567 kg, respectivamente.

Os animais já estavam adaptados às dietas, porque a alimentação, na forma de mistura completa, foi equivalente à do rebanho da UEPE-GL-UFV, constituída de silagem de milho à vontade e um kg de concentrado para cada três kg da média diária de leite produzido na semana anterior. A alimentação foi fornecida diariamente às 7:00h e 16:00h, permitindo sobras de, no máximo 5%, que foram retiradas pela manhã, quantificadas, amostradas e armazenadas, em saco plástico, a  $-15^{\circ}\text{C}$ . As vacas foram ordenhadas mecanicamente, duas vezes ao dia, registrando-se a produção de leite.

O período experimental teve duração de 15 dias, sendo sete para adaptação às instalações e oito dias para coleta de amostras de alimento, sobras, leite, urina e sangue.

As proporções dos ingredientes no concentrado estão apresentadas na Tabela 1 e as composições médias dos alimentos utilizados estão na Tabela 2.

Tabela 1 - Proporção dos ingredientes no concentrado (% matéria natural)

Ingredientes	%
Milho grão	60,45
Farelo de soja	31,70
Uréia/Sulfato de amônio	2,00
Calcário	0,44
Fosfato Bicálcio	0,17
Sal	1,24
Micromineral	0,03
Vitaminas	0,10
Bicarbonato de sódio	1,50
Oxido de magnésio	0,60
Enxofre	0,08
Cloreto de potássio	0,15

Do 5° ao 7° dia do período de coletas foram obtidas amostras de fezes diretamente do reto, duas vezes ao dia, nos horários de 12h00 e 18h00; 10h00 e 16h00 e 8h00 e 14h00, respectivamente. As amostras foram pré-secas em estufa de ventilação forçada, 65°C, por 72 a 96 horas, moídas em moinho de facas com peneira de 1 mm e então elaborou-se uma amostra composta por animal, com base no peso seco de cada subamostra.

Tabela 2 – Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), fibra insolúvel em detergente neutro indigestível (FDNi) e carboidratos não-fibrosos (CNF) da silagem de milho e do concentrado, com base na matéria seca

Itens	Alimentos	
	Silagem de milho	Concentrado
MS (%)	25,45	88,19
MO <sup>1</sup>	95,10	92,61
PB <sup>1</sup>	6,20	25,60
EE <sup>1</sup>	2,89	1,47
FDNcp <sup>1</sup>	51,33	12,82
CNF <sup>1,2</sup>	34,67	56,18
FDNi <sup>1</sup>	16,36	1,69

<sup>1</sup> – Valores em porcentagem da MS.

<sup>2</sup> – CNF= %MO-[(%PB-%PB<sub>U</sub>+%Uréia)+%EE+%FDNcp]

Nas ordenhas da manhã e da tarde, do terceiro e quarto dias do período de coletas, foram obtidas amostras de leite, sendo elaboradas amostras compostas de cada dia, proporcional à produção de leite, e retiradas duas alíquotas de cada amostra composta, sendo que a primeira alíquota de 50 mL foi acondicionada em frasco plástico com conservante (Bronopol<sup>R</sup>), mantida entre 2 e 6°C, e encaminhada para o Laboratório de Análises de Leite do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, para avaliação dos teores de lactose, gordura, proteína, extrato seco total e extrato seco desengordurado, segundo métodos descritos pelo International Dairy Federation (1996); a segunda alíquota foi desproteïnizada com ácido tricloroacético (10 mL de leite foi diluída com 5 mL de ácido tricloroacético a 25%), filtrada em papel filtro e armazenada a -15°C para posteriores análises de alantoina e uréia.

Amostras *spot* de 50 mL de urina foram obtidas de todas as vacas no terceiro e quarto dias do período de coleta nos horários de 8h00, 12h00 e 16h00, sendo a primeira coleta imediatamente depois da primeira alimentação, a segunda coleta aproximadamente quatro horas após a primeira alimentação e a terceira coleta imediatamente depois da segunda alimentação. A urina foi obtida durante micção estimulada por massagem na vulva.

A urina foi filtrada e alíquotas de 10 mL foram retiradas e diluídas imediatamente em 40 mL de ácido sulfúrico a 0,036N, para evitar deterioração bacteriana dos derivados de purinas e precipitação de ácido úrico, e armazenadas a -15°C para posteriores análises de alantoína, ácido úrico e creatinina. Uma amostra de 50 mL de urina pura foi armazenada para determinação dos compostos nitrogenados totais e uréia.

Nas amostras *spot* de urina diluída foram feitas amostras compostas por animal de cada horário dos dois dias de coleta.

No sexto, sétimo e oitavo dias do período de coleta foi realizada coleta total de urina de cada animal, durante 24 horas, utilizando-se sondas de Folley nº26, duas vias, com balão de 50 mL, que foi introduzido via uretra até a bexiga. Na extremidade externa da sonda foi acoplada mangueira de polietileno que conduziu a urina até recipientes plásticos, contendo 200 mL de ácido sulfúrico a 20%. No momento das ordenhas, a mangueira de polietileno foi retirada do recipiente plástico e acoplada à bolsa coletora de urina que se encontrava fixa no dorso do animal. A urina coletada na bolsa foi adicionada à do recipiente plástico. Ao término das 24 horas de coleta, a urina foi pesada e homogeneizada e obtiveram-se duas amostras (pura e diluída) por animal conforme descrito para a amostra *spot*.

Foram feitas amostras compostas da urina diluída do horário de 24h por animal referentes aos três dias de coleta, proporcionalmente à produção urinária diária.

Para as análises de cromatografia líquida de alta performance (HPLC), o pH das amostras compostas foi ajustado para 7, e essas centrifugadas a 2000 rpm por 8 minutos. Logo após foram feitas novas diluições com 1 mL de água deionizada e 1 mL de urina centrifugada, e procedeu-se à filtração utilizando-se filtro quantitativo (Millipore). Essas amostras assim processadas foram acondicionadas em frasco de 2 mL, identificadas e imediatamente armazenadas a -20 °C para posteriores análises de alantoina, ácido úrico e creatinina pelo método de HPLC, conforme técnica descrita por George et al. (2006).

No oitavo dia do período de coletas, após a primeira ordenha da manhã, foram obtidas amostras de sangue por punção da veia coccígea, utilizando-se tubo de ensaio com gel acelerador de coagulação. As amostras foram imediatamente centrifugadas a 5000 rpm por 15 minutos para a obtenção do soro que foi armazenado em congelador para posteriores análises de uréia.

Nas amostras de silagem, concentrado, sobras e fezes foram efetuadas as análises de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), compostos nitrogenados (N) e extrato etéreo (EE), conforme técnica descrita por Silva & Queiroz (2002). A fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) foi determinada pela técnica da autoclave, segundo Rennó et al. (2002), quantificando-se os teores de PB e cinzas da FDN, conforme Silva & Queiroz (2002).

A fibra insolúvel em detergente neutro indigestível (FDNi) foi utilizada como indicador interno para se estimar a produção de matéria seca fecal (Detmann et al., 2001). Foi realizada a incubação ruminal de amostras de sobras, fezes, silagem e concentrado durante 240h em sacos de ankorm (filter bags F57), (Casali et al., 2008). O material remanescente da incubação foi posteriormente tratado com detergente neutro

(Mertens, 2002) por 1 hora, sendo os sacos lavados com água quente e acetona, secos e pesados, para quantificação da FDN indigestível.

Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram estimados segundo a equação proposta por Hall (2000):  $CNF = 100 - [(\%PB - \%PB \text{ derivada da uréia} + \% \text{ de uréia}) + \%FDNcp + \%EE + \%cinzas]$ , utilizando-se a FDNcp em vez da FDNp.

O balanço de compostos nitrogenados (BN) foi obtido pela diferença entre o total de compostos nitrogenados ingeridos (Ning) e o total de compostos nitrogenados excretado nas fezes (N-fezes), na urina (N-urina) e secretado no leite (N-leite). A determinação dos compostos nitrogenados nas fezes e na urina foi feita segundo técnica descrita em Silva & Queiroz (2002).

A determinação da uréia na urina, plasma e no leite desproteínizado foi realizada segundo o método diacetil modificado (kits comerciais).

As análises de alantoína no leite desproteínizado foram feitas pelo método colorimétrico, conforme técnica de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen & Gomes (1992).

A excreção total de DP foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretadas na urina e da quantidade de alantoína secretada no leite, expressas em mmol/dia.

As purinas absorvidas (Pabs, mmol/dia), foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas (DP, mmol/dia) por intermédio da equação:

$Pabs = (DP - DP \text{ endógeno} * PC^{0,75}) / 0,80$ , em que 0,80 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados de purina (Barbosa et al., 2011) e  $DP \text{ endógeno} * PC^{0,75}$ , foi considerada a excreção endógena de derivados de purina em mmol/kgPC<sup>0,75</sup> encontrada neste trabalho.

A síntese ruminal de compostos nitrogenados ( $N_{mic}$ , gN/dia) foi calculada em função das purinas absorvidas ( $P_{abs}$ , mmol/dia), utilizando-se a equação (Chen & Gomes, 1992):

$N_{mic} = (70 * P_{abs}) / (0,83 * 0,116 * 1000)$ , em que 70 representa o conteúdo de N nas purinas (mgN/mmol); 0,83 a digestibilidade das purinas microbianas e 0,116 a relação N purina:N total dos microrganismos ruminais (Chen & Gomes, 1992).

Os resultados foram avaliados por meio de análise de variância, utilizando-se nível de 5% de probabilidade para o erro tipo I, por intermédio do programa SAS, sendo utilizado o teste de T para comparação de médias.

Foram ajustadas equações de regressão linear simples para relacionar o nitrogênio uréico no plasma (NUP, mg/dL), nitrogênio uréico no leite (NUL, mg/dL) e nitrogênio uréico na urina (NUU, g/dia) com o consumo de compostos nitrogenados (CNO g/dia). Assim como as relações entre NUP e NUL; NUP e NUU.

Para avaliação dos efeitos da produção de leite e dos tempos de amostragem da coleta *spot* de urina sobre as relações Ala:Cre; AcU:Cre; DP:Cre e Ure:Cre foi utilizado o esquema de medida repetida no tempo, segundo o delineamento inteiramente casualizado por intermédio do PROC MIXED do programa SAS (Kaps & Lambuson, 2004).

As relações entre a excreção urinária diária dos DP e os consumos de nutrientes digestíveis totais (NDT) e matéria orgânica digestível (CMOD) e de matéria seca (CMS) foram avaliadas através do modelo de regressão linear simples.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve diferença entre os tratamentos ( $P < 0,05$ ) na produção de leite expressa em kg/dia, conforme o planejamento experimental (Tabela 3).

Quanto aos componentes do leite, não houve diferença ( $P > 0,05$ ) para as porcentagens de lactose e gordura do leite entre os tratamentos, enquanto o teor de proteína foi maior ( $P < 0,05$ ) no leite de vacas de baixa produção (Tabela 3).

Diversos fatores estão relacionados com a variação na proporção dos componentes do leite, dentre os quais a relação volumoso: concentrado da dieta fornecida; conseqüentemente a alimentação responde por aproximadamente 50% das variações de gordura e proteína do leite (Fredeen, 1996). A relação volumoso: concentrado com base em matéria seca nas dietas fornecidas foi de 50,77:49,23; 58,57:41,43 e 72,09:27,91, respectivamente, para vacas dos tratamentos Alta, Média e Baixa produção de leite.

As variações ocorridas na relação volumoso: concentrado do presente experimento não resultaram em alterações ( $P > 0,05$ ) na gordura do leite, devido ao maior CV para a variável gordura em relação a proteína, não foi possível determinar diferença significativa. O efeito observado sobre o teor de proteína pode ser explicado pelo período de lactação, considerando-se que as vacas dos tratamentos de Alta, Média e Baixa estavam com 10, 32 e 42 semanas de lactação, conforme Ribas et al. (2003), que relataram que a proteína láctea se comporta de modo inverso à produção de leite ao longo da lactação, ocorrendo elevação gradual até o final da lactação.

Tabela 3 – Médias e coeficientes de variação (CV) obtidas para as produções diárias de leite (PL), os teores de gordura (%G), proteína bruta (PB), lactose do leite e eficiência de utilização de nitrogênio para produção de leite (ENL), os consumos diários de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas (FDNcp), carboidratos não-fibrosos (CNF), nutrientes digestíveis totais (NDT) e nitrogênio (N), para os diferentes níveis de produção de leite

Itens	Produção de leite			P	CV
	ALTA	MÉDIA	BAIXA		
PL (kg)	33,50 <sup>a</sup>	18,42 <sup>b</sup>	11,07 <sup>c</sup>	0,0002	21,10
G (%)	3,20 <sup>a</sup>	3,02 <sup>a</sup>	3,83 <sup>a</sup>	0,2531	18,85
PB (%)	2,92 <sup>b</sup>	3,08 <sup>b</sup>	3,64 <sup>a</sup>	0,0002	4,73
Lactose (%)	4,49 <sup>a</sup>	4,36 <sup>a</sup>	4,42 <sup>a</sup>	0,9047	0,02
ENL (%)	30,00 <sup>a</sup>	26,00 <sup>a</sup>	32,00 <sup>a</sup>	0,3829	21,07
Consumos (kg/dia)					
MS	20,09 <sup>a</sup>	15,38 <sup>b</sup>	11,27 <sup>c</sup>	0,0017	15,15
MO	18,86 <sup>a</sup>	14,52 <sup>b</sup>	10,21 <sup>c</sup>	0,0032	17,41
PB	3,19 <sup>a</sup>	2,16 <sup>b</sup>	1,24 <sup>c</sup>	<0,0001	7,55
EE	0,43 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a,b</sup>	0,27 <sup>b</sup>	0,0274	19,06
FDNcp	6,36 <sup>a</sup>	5,35 <sup>a</sup>	4,33 <sup>a</sup>	0,1330	23,71
FDNi	1,78 <sup>a</sup>	1,53 <sup>a</sup>	1,34 <sup>a</sup>	0,2394	22,04
CNF	9,19 <sup>a</sup>	6,80 <sup>b</sup>	4,47 <sup>c</sup>	0,0002	14,03
NDT	13,58 <sup>a</sup>	10,61 <sup>b</sup>	7,30 <sup>c</sup>	0,0006	13,72
N	0,512 <sup>a</sup>	0,346 <sup>b</sup>	0,198 <sup>c</sup>	<0,0001	7,64
Consumos (%PC)					
MS	3,55 <sup>a</sup>	2,82 <sup>a</sup>	1,94 <sup>b</sup>	0,0056	18,65
FDNcp	1,12 <sup>a</sup>	0,98 <sup>a</sup>	0,75 <sup>a</sup>	0,1701	26,41
FDNi	0,31 <sup>a</sup>	0,28 <sup>a</sup>	0,23 <sup>a</sup>	0,3055	25,60
Peso Médio (kg)					
	567,00	548,00	609,25		

<sup>a, b, c</sup> – Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste t a 5% de probabilidade.

A lactose é o componente lácteo de menor variação no leite bovino (González, 2001). É um importante constituinte osmótico do leite, por estar associada à secreção de água e conseqüentemente ao volume de leite produzido (Eifert et al., 2006). O valor médio encontrado de 4,4% de lactose (Tabela 3) corresponde ao descrito na bacia leiteira de Pelotas por Gonzalez et al. (2004) e é semelhante à média de 4,5% obtida de amostras de tanque, nas regiões Sul e Sudeste (Ribas et al., 2003; Machado et al., 2003).

A eficiência de utilização de nitrogênio (kg N-leite/kg N-ingerido) expressa em porcentagem, não apresentou diferença ( $P>0,05$ ) entre os tratamentos.

A produção de leite está intimamente relacionada ao consumo de MS, e, conforme o planejamento experimental, houve diferença entre os tratamentos ( $P<0,05$ ) para o consumo diário de MS expresso em kg.

Os consumos diários de MO, PB, CNF, NDT e de N seguiram o mesmo perfil ( $P<0,05$ ) do consumo de MS (kg), ainda que o fornecimento do concentrado estivesse de acordo com a produção de leite. Não houve diferença ( $P>0,05$ ) entre os tratamentos para os consumos de FDNcp e FDNi, apesar das variações da relação volumoso: concentrado.

Os consumos de MS expresso em % do PC apresentou diferença ( $P<0,05$ ) entre os tratamentos, sendo maiores para os animais de Alta e Média produção que não diferiram entre si. As médias obtidas foram de 1,94; 2,82 e 3,55, respectivamente, para os animais de Baixa, Média e Alta produção, respectivamente.

Os consumos de FDNcp em % do PC não diferiram ( $P>0,05$ ) entre os tratamentos e foram de 0,75; 0,98 e 1,12 % do PC, respectivamente, para os animais de Baixa, Média e Alta produção de leite (Tabela 3). No Brasil, vários autores encontraram consumos de FDN entre 1,3 e 1,6% do PC, trabalhando com vacas em lactação, (Malafaia et al., 1996; Almeida, 1997; Moreira, 2001).

Os consumos de FDNi em % do PC não diferiram ( $P>0,05$ ) entre os tratamentos e foram de 0,23; 0,28 e 0,31 % do PC, respectivamente, para os animais de Baixa, Média e Alta produção de leite (Tabela 3).

Não houve diferença entre tratamentos ( $P>0,05$ ) para as digestibilidades da MS, MO, PB e CNF, enquanto as digestibilidades do EE e FDNcp foram menores ( $P<0,05$ ) para vacas de Alta produção em comparação àquelas de baixa produção (Tabela 4).

Embora tenham consumido diferentes proporções de volumoso e concentrado devido ao fornecimento de concentrado de acordo com a produção de leite, e ter havido diferença ( $P<0,05$ ) nos consumos de nutrientes, não foram observadas diferenças nas digestibilidades da MS, MO, PB, CNF e na percentagem de NDT das dietas. Sabe-se que a taxa de passagem do alimento no rúmen é uma variável importante na regulação do consumo. O maior ou menor tempo de retenção no retículo-rúmen pode influenciar os processos de digestão e de assimilação dos nutrientes, o que não foi verificado no presente trabalho.

A menor digestibilidade da FDNcp observada no tratamento de Alta deve ter sido consequência da maior proporção de concentrado na dieta e do menor tempo de permanência da digesta no ambiente ruminal em função do maior consumo, visto que a degradação da FDNcp é lenta e portanto altamente influenciada pelo tempo de contato com as enzimas bacterianas (Chizzott et al., 2007).

Tabela 4 – Médias e coeficientes de variação (CV) obtidas para os coeficientes de digestibilidade aparente total da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), carboidratos não-fibrosos (CNF) e teores de nutrientes digestíveis totais (NDT), para os diferentes níveis de produção de leite

Itens	Produção de leite			P	CV
	ALTA	MÉDIA	BAIXA		
MS	67,06 <sup>a</sup>	67,31 <sup>a</sup>	69,16 <sup>a</sup>	0,8950	10,06
MO	68,87 <sup>a</sup>	69,29 <sup>a</sup>	69,67 <sup>a</sup>	0,9804	8,11
PB	65,89 <sup>a</sup>	61,58 <sup>a</sup>	58,43 <sup>a</sup>	0,6091	16,71
EE	72,96 <sup>b</sup>	77,29 <sup>ba</sup>	81,87 <sup>a</sup>	0,0583	5,78
FDNcp	54,50 <sup>b</sup>	59,10 <sup>a</sup>	61,23 <sup>a</sup>	0,0949	6,70
CNF	79,32 <sup>a</sup>	80,92 <sup>a</sup>	80,23 <sup>a</sup>	0,9008	6,15
NDT <sup>1</sup>	67,75a	69,00a	65,00a	0,1748	4,16

<sup>a, b, c</sup> - Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste t de a 5% de probabilidade.

<sup>1</sup> - % da MS da dieta.

As concentrações de NUL e NUP apresentaram diferenças entre os tratamentos ( $P < 0,05$ ), sendo menores para vacas de baixa produção, possivelmente em razão do menor consumo de PB (Tabela 5).

Tabela 5 – Médias e coeficientes de variação (CV), obtidas para as concentrações de nitrogênio uréico no plasma (NUP) e no leite (NUL) e excreções de N total no leite (NL), de nitrogênio uréico no leite (NUL), de N total urinário (NU), de nitrogênio uréico na urina (NUU) e balanço de nitrogênio (BN) para os diferentes níveis de produção de leite

Itens	Produção de leite			P	CV
	ALTA	MÉDIA	BAIXA		
Concentrações (mg/dL)					
NUP	12,30 <sup>a</sup>	11,48 <sup>a</sup>	5,01 <sup>b</sup>	0,0003	17,42
NUL	15,57 <sup>a</sup>	13,10 <sup>ab</sup>	9,33 <sup>b</sup>	0,0396	22,81
Excreções diárias					
NL (g)	156,48 <sup>a</sup>	90,26 <sup>b</sup>	64,40 <sup>b</sup>	0,0005	20,76
NUL (g)	5,03 <sup>a</sup>	2,37 <sup>b</sup>	0,95 <sup>b</sup>	0,0007	34,70
NU (g)	136,64 <sup>a</sup>	93,97 <sup>ab</sup>	62,21 <sup>b</sup>	0,0058	24,64
NUU (g)	129,14 <sup>a</sup>	74,57 <sup>b</sup>	40,72 <sup>b</sup>	0,0028	31,45
BN (g)	35,25 <sup>a</sup>	31,53 <sup>a</sup>	-18,21 <sup>b</sup>	0,0269	156,50
BN% ingerido	6,90 <sup>a</sup>	8,70 <sup>a</sup>	-11,83 <sup>b</sup>	0,0418	841,30

<sup>a, b, c</sup> - Médias, na linha, seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste t a 5% de probabilidade;

Relações lineares foram observadas ( $P < 0,05$ ) entre as concentrações de NUP e NUL em função do consumo de compostos nitrogenados da dieta (Figura 1).

Com relação ao NUL (mg/dL), Frank & Swensson (2002) observaram maiores valores de NUL em animais alimentados com níveis superiores de PB e Roseler et al. (1993) concluíram que a variação da porcentagem de PDR e PNDR na dieta afeta significativamente o NUL, corroborando os resultados deste estudo.

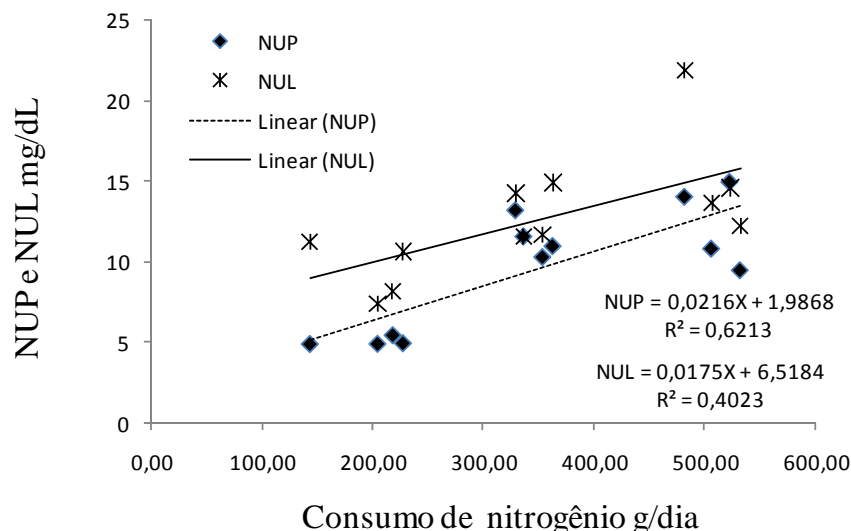


Figura 1- Relações entre nitrogênio uréico no plasma (NUP) e nitrogênio uréico no leite (NUL), em mg/dL, em função do consumo de nitrogênio (g/dia), e as respectivas equações e coeficientes de determinação ( $r^2$ ).

Do mesmo modo que neste trabalho, Claypool et al. (1980) concluíram que o NUP foi estreita e diretamente associado à ingestão de PB da dieta. Vários autores, Hennessy et al. (1995) Thomson et al. (1995), Valadares et al. (1997) e Valadares et al. (1999) demonstraram que a concentração plasmática de uréia está positivamente relacionada à ingestão de N.

Segundo Oliveira et al. (2001), as concentrações de NUP de 19 a 20 mg/dL, representariam limites a partir dos quais estariam ocorrendo perdas de nitrogênio dietético em vacas leiteiras com produção média de 20 kg. Os valores de NUP encontrados no presente estudo (Tabela 5) para os animais de Alta, Média e Baixa produção de leite estão abaixo da faixa que indicaria perda de nitrogênio dietético.

Segundo Gustafsson & Palmquist (1993), o NUP e a concentração de N-NH<sub>3</sub> no rúmen variam em função do consumo de alimentos, sendo que os picos diários de concentração de NUP ocorrem aproximadamente uma a duas horas após o pico de N-NH<sub>3</sub> no rúmen ou duas a quatro horas após a alimentação.

Segundo Butler et al. (1995), a variação horária de NUL segue o mesmo padrão de nitrogênio uréico no plasma (NUP), podendo ser um parâmetro útil para avaliar a utilização da proteína em relação a sua ingestão, entretanto isso não foi avaliado no presente trabalho.

Hutjens & Barmore (1995), citados por Broderick (1995), sugeriram que uma variação de NUL 12 a 17 mg/dL indicaria um ótimo balanceamento de proteína degradada e energia fermentada no rúmen. Jonker et al. (1999) encontraram valores de 10 a 16mg/dL, dependendo da produção de leite. No presente trabalho, os valores médios de NUL (Tabela 5) para os animais de Alta e Média produções se enquadraram entre os valores dispostos acima.

Houve diferença ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos de Alta, Média e Baixa produção, para as excreções de N total e N uréico no leite e na urina, sendo que os animais de Alta produção apresentaram maiores valores em relação aos de Média e Baixa produção (Tabela 5). De acordo com Santos et al. (2001), quanto maior for a degradabilidade da proteína da ração maior será a produção de amônia e possivelmente, maiores serão as perdas urinárias de compostos nitrogenados na forma de uréia. O maior consumo de proteína bruta (Tabela 3) pelos animais mais produtivos pode ter resultado em maiores concentrações de NUP e NUL e maiores excreções de N uréico e N total na urina e no leite.

Observa-se relação linear ( $P < 0,05$ ) entre NUU e consumo de compostos nitrogenados da dieta (Figura 2). Segundo Obara et al. (1991), o consumo de PB influenciaria diretamente as concentrações de NUL, NUP e conseqüentemente NUU, considerando que a amônia absorvida pelo trato digestivo é convertida a uréia pelo fígado e excretada na urina ou transferida para o intestino e degradada por microrganismos. Para determinada dieta, a quantidade de uréia que é reciclada para o

rúmen pela saliva ou via epitélio ruminal é diretamente relacionada ao consumo de nitrogênio e à degradabilidade do nitrogênio dietético, assim como sua quantidade excretada.

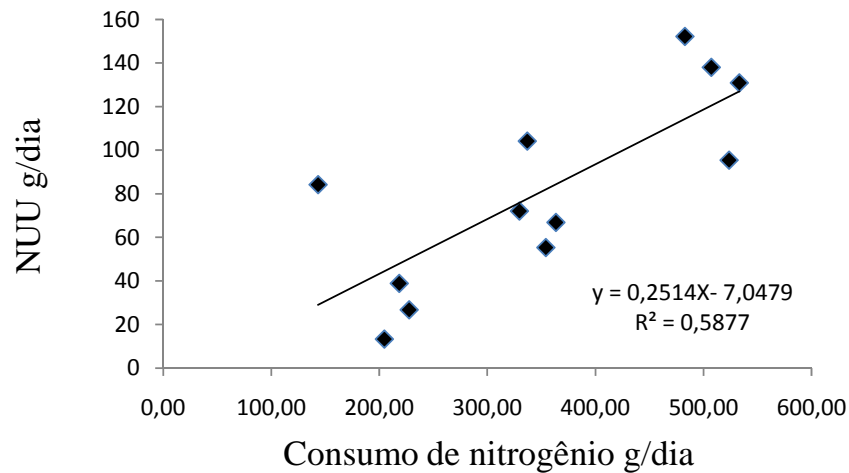


Figura 2- Relação entre nitrogênio uréico na urina (NUU, g/dia) e o consumo de nitrogênio (CN, g/dia), com a respectiva equação e coeficiente de determinação ( $r^2$ ).

O balanço de compostos nitrogenados (Tabela 5) expresso em g/dia e em % do ingerido diferiu entre aos tratamentos ( $P < 0,05$ ), sendo maior e positivo para as vacas dos tratamentos de Alta e Média produção de leite, indicando que o maior aporte de compostos N resultou em maior retenção de N no organismo animal, proporcionando o atendimento das exigências de manutenção e produção.

Entretanto é importante salientar que houve BN negativo para os animais de Baixa produção de leite, o que pode indicar que as exigências protéicas dos animais não foram adequadamente atendidas, ou ocorreram desbalanços de energia e proteína nas dietas, resultando em mobilização de tecidos corporais.

A relação linear ( $P < 0,05$ ) entre NUL e NUP e NUP com NUL, expressas em mg/dL foi observada (Figuras 3 e 4). Assim como encontrado neste trabalho, Oltner & Wiktorsson (1983), Gustafsson & Palmquist (1993), Ferguson (1997) e Baker et al.

(1995) também reportaram elevada correlação entre as concentrações de N uréico em ambos os líquidos (plasma e leite).

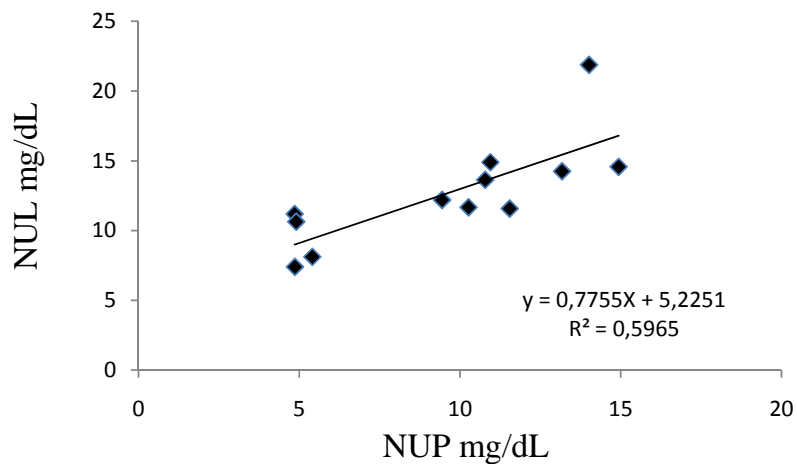


Figura 3- Relação entre nitrogênio uréico no leite (NUL, mg/dL) e o nitrogênio uréico no plasma (NUP, mg/dL), com a respectiva equação e coeficiente de determinação ( $r^2$ ).

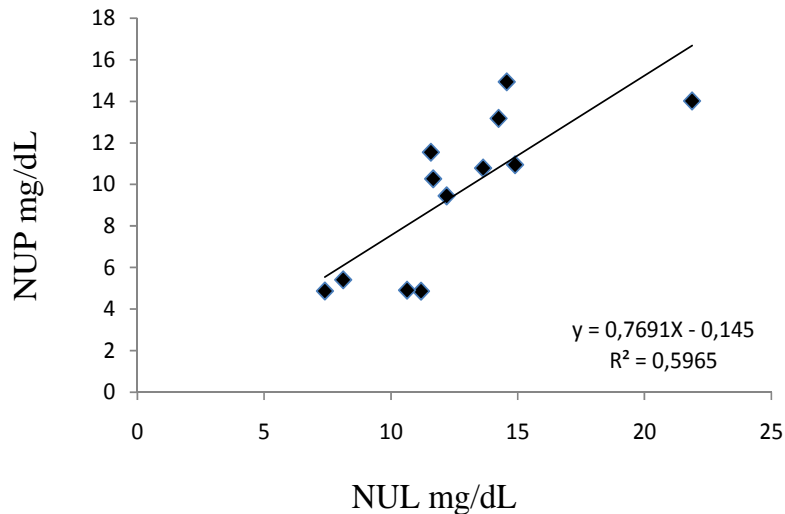


Figura 4- Relação entre nitrogênio uréico no plasma (NUP, mg/dL) e o nitrogênio uréico no leite (NUL, mg/dL), com a respectiva equação e coeficiente de determinação ( $r^2$ ).

A avaliação da quantidade de nitrogênio dietético realmente aproveitada pelo animal é um problema comum da prática nutricional e poderia ser feito a partir das

concentrações de N uréico no sangue. Este metabólito poderia gerar informações tanto do metabolismo protéico como energético por apresentar rápida difusão tissular e permitir sua análise no plasma sanguíneo (Eicher et al., 1999) e no leite (Peixoto Jr., 2003).

Segundo Broderick & Clayton (1997), a concentração de N-uréia no leite (NUL) reflete a concentração de NUP, e a concentração de uréia no leite pode ser potente indicador do metabolismo protéico em vacas (Roseler et al., 1993; Shepers & Meijer, 1998; e Jonker et al., 1998). Broderick & Clayton (1997) propuseram um modelo linear de regressão relacionando NUL e BUN (N- uréico no sangue):  $NUL (mg/dL) = 0,620 * BUN + 4,75$  ( $r^2 = 0,842$ ).

Observa-se a excreção diária de nitrogênio uréico na urina foi linearmente ( $P < 0,05$ ) relacionada com o NUP, confirmando a afirmação de Harmeyer & Martens (1980) de que a quantidade de uréia excretada na urina é influenciada principalmente pela sua concentração no plasma (Figura 5).

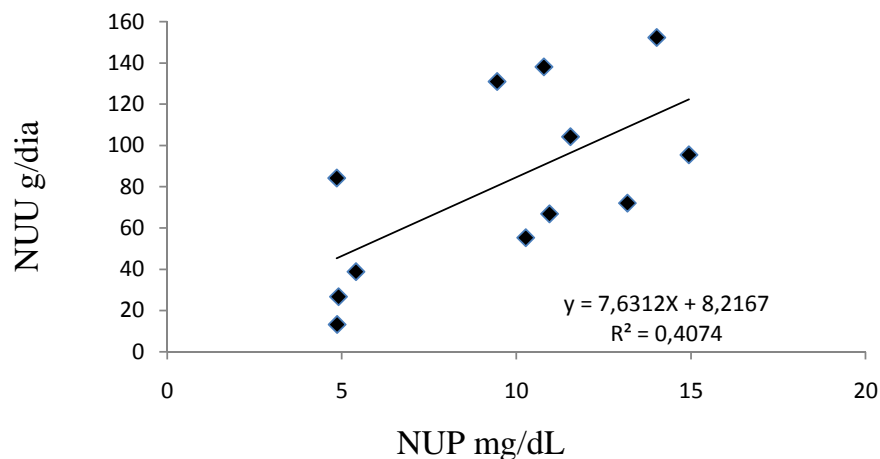


Figura 5- Relação entre nitrogênio uréico na urina (NUU, mg/dL) e nitrogênio uréico no plasma (NUP, g/dia), com a respectiva equação e coeficiente de determinação ( $r^2$ ).

A excreção de creatinina não foi influenciada ( $P>0,05$ ) pela produção de leite (tratamentos de Alta, Média e Baixa produção) visto que esta é relativamente constante, apresentando valor médio de 25,13 mg/kgPC (Tabela 6). Valores médios inferiores ao encontrado neste trabalho de 24,04 mg/kgPC e 23,6 mg/kgPC foram obtidos por Chizzoti et al. (2004), trabalhando com vacas lactantes com diferentes níveis de produção e Silva et al. (2001), com vacas mestiças (Holandês-Gir) alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de uréia, respectivamente.

A concentração de creatinina reflete o balanço de água, podendo estar maior ou menor ao longo do dia em função do volume urinário. Por outro lado, a quantidade excretada de creatinina, expressa em g, mg/kgPC ou mmol/kgPC é constante ao longo do dia, conforme observado por Pereira (2009), a partir de coletas de urina em intervalos de 4 horas em bovinos.

Pode-se observar maiores ( $P<0,05$ ) excreções urinárias de alantoína para animais mais produtivos (33,50 kg de leite por dia) em relação aos animais menos produtivos (18,42 e 11,07 kg/dia). As excreções urinárias de ácido úrico no presente experimento tiveram comportamento semelhante ao obtido para as excreções de alantoína (Tabela 6).

Dessa forma, observa-se que as menores excreções de alantoína e ácido úrico e, portanto, as menores excreções de derivados de purina nos animais de baixa produção são o reflexo de menores taxas de absorção intestinal de purinas e menor produção de proteína microbiana no rúmen destes animais. Segundo Gonzalez-Ronquillo et al. (2003), variações na síntese microbiana ruminal estão associadas às mudanças no suprimento de energia e proteína ao animal hospedeiro, conseqüentes de mudanças na produção de leite, o que justifica a correlação entre a produção de leite e a excreção de derivados de purina em diversas publicações relatadas pelos autores.

A secreção de alantoina no leite foi afetada ( $P < 0,05$ ) pelos níveis de produção de leite, provavelmente devido às diferenças do consumo de PB na dieta, observando-se valores de 3,97; 2,93 e 1,43 mmol/dia para os tratamentos de Alta, Média e Baixa produção de leite, respectivamente. Já Chizzotti et al. (2007) não observaram diferença para as secreções de alantoina no leite (1,12; 0,88 e 0,34 mmol/dia) em vacas de Alta, Média e Baixa produção, respectivamente.

Tabela 6 – Médias e probabilidade (P), coeficientes de variação (CV), obtidas para as excreções diárias de alantoína (Ala), ácido úrico (AcU), creatinina (Cre), alantoina no leite (Alal), derivados de purinas (DP), quantidades de purinas absorvidas (Pabs), produção de nitrogênio microbiano (Nmic), proteína microbiana sintetizada no rúmen (PB mic), eficiência de síntese microbiana em g de proteína microbiana por quilo de nutrientes digestíveis totais consumido (gPBmic/kg NDT) para os diferentes níveis de produção de leite

Item	Produção de Leite			P	CV%
	ALTA	MÉDIA	BAIXA		
Cre <sup>1</sup>	126,34 <sup>a</sup>	121,29 <sup>a</sup>	134,66 <sup>a</sup>	0,5545	13,35
Cre <sup>3</sup>	0,23 <sup>a</sup>	0,22 <sup>a</sup>	0,22 <sup>a</sup>	0,7985	4,68
Cre <sup>5</sup>	25,27 <sup>a</sup>	25,04 <sup>a</sup>	25,10 <sup>a</sup>	0,9598	4,67
Ala <sup>1</sup>	265,17 <sup>a</sup>	223,13 <sup>b</sup>	132,30 <sup>c</sup>	0,0001	12,55
Ala <sup>3</sup>	0,47 <sup>a</sup>	0,41 <sup>a</sup>	0,22 <sup>b</sup>	<0,0001	11,09
Alal <sup>1</sup>	3,97 <sup>a</sup>	2,93 <sup>a</sup>	1,43 <sup>b</sup>	0,0058	29,7
AcU <sup>1</sup>	60,39 <sup>a</sup>	44,84 <sup>b</sup>	35,69 <sup>c</sup>	0,0002	10,61
AcU <sup>3</sup>	0,11 <sup>a</sup>	0,08 <sup>b</sup>	0,06 <sup>c</sup>	<0,0001	9,69
DP <sup>1</sup>	329,52 <sup>a</sup>	270,91 <sup>b</sup>	169,42 <sup>c</sup>	<0,0001	11,28
DP <sup>3</sup>	0,59 <sup>a</sup>	0,50 <sup>b</sup>	0,28 <sup>c</sup>	<0,0001	10,29
Pabs <sup>2</sup>	377,50 <sup>a</sup>	305,09 <sup>b</sup>	175,57 <sup>c</sup>	<0,0001	11,83
Nmic <sup>2</sup>	274,46 <sup>a</sup>	221,81 <sup>b</sup>	127,65 <sup>c</sup>	<0,0001	11,83
PBmic <sup>1</sup>	1715,40 <sup>a</sup>	1386,30 <sup>b</sup>	797,8 <sup>c</sup>	<0,0001	11,83
gPBmic/kgNDT <sup>4</sup>	126,83 <sup>a</sup>	131,14 <sup>a</sup>	129,98 <sup>a</sup>	0,9599	16,93

<sup>a, b, c</sup> - Médias, na linha, seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste t a 5% de probabilidade  
<sup>1</sup> - mmol/dia; <sup>2</sup> - g/dia; <sup>3</sup> - mmol/kgPC; <sup>4</sup> - g de PBmic/kg de NDT consumido; <sup>5</sup> - mg/kgPC.

Em trabalho realizado por Gonda & Lindberg (1997), as secreções de alantoína no leite foram superiores, quando o consumo de MS ou a porcentagem de concentrado na dieta aumentaram. A alantoína no leite representou apenas 1,20, 1,08 e 0,84% da excreção total de DP nos tratamentos Alta, Média e Baixa, com uma média de 1,04%. Este valor está dentro dos encontrados por Gonda & Lindberg (1997), 0,6 a 1,3%. Entretanto é inferior aos encontrados por Chen & Gomes (1992), Valadares et al. (1999) e Oliveira et al. (2001), que foram de 4,5%, 4,2 a 5,7% e 5,0%, respectivamente.

Observou-se diferença ( $P < 0,05$ ) nas purinas absorvidas entre os tratamentos de Alta, Média e Baixa produção de leite, este fato também pode ser observado nas excreções urinárias de derivados de purina, isto provavelmente está interligado visto que as purinas absorvidas são calculadas a partir destas variáveis (Chen & Gomes, 1992).

Segundo González-Ronquillo et al. (2003), na maioria dos dados citados na literatura, a excreção de derivados de purina está positivamente correlacionada com a produção de leite, sendo esse fato atribuído às mudanças na síntese microbiana ruminal associadas a alterações nas quantidades de proteína e energia fornecidas ao animal hospedeiro, conseqüentemente aumentando ou diminuindo o aporte de nutrientes para a produção de leite. A correlação existente entre a produção de leite e a secreção de alantoína pela glândula mamária, pode certamente limitar o uso da alantoína ou derivados de purina lácteos, como índice para predição do suprimento de proteína microbiana em vacas lactantes (González-Ronquillo et al., 2003). Por isso, a secreção de derivados de purinas no leite não pode ser considerada substituto para excreção de derivados de purina na urina ou como índice para estimativa da síntese de proteína microbiana ruminal (González-Ronquillo et al., 2004).

Observa-se diferença significativa entre os tratamentos de Alta, Média e Baixa ( $P < 0,05$ ) no que se refere a produção de N microbiano e consequentemente, na síntese de PB microbiana, sendo atribuída essa diferença ao consumo mais elevado por parte dos animais mais produtivos, que resultou em maior quantidade de substratos fermentáveis e maior crescimento microbiano.

A eficiência de síntese microbiana (g de PBmic/kg de NDT consumido) não diferiu ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos possivelmente em virtude da diminuição da produção de Nmic e do NDT ingerido nos animais de menor produção. Segundo Clark et al. (1992), as disponibilidades ruminais de energia e N são os fatores nutricionais que mais afetam o crescimento microbiano, sendo assim, a relação volumoso:concentrado dietética poderia influir no crescimento microbiano em razão da variação na disponibilidade de energia.

Não houve diferença ( $P > 0,05$ ) nas relações uréia: creatinina, alantoina: creatinina, ácido úrico: creatinina e derivados de purina: creatinina em função dos diferentes tempos de coleta (Tabela 7). Chen et al. (1995), agrupando as amostras em seis períodos de 4 horas, não obtiveram diferenças entre as relações das concentrações de DP:Cre em função do tempo de amostragem.

Em pesquisa realizada com 16 ovelhas alimentadas ad libitum, Chen et al. (1995) reportaram que a relação DP:creatinina em amostras *spot* não apresentou diferença significativa entre os tempos de amostragem, (amostragens horárias durante dois dias consecutivos) e foi linearmente correlacionada com a excreção diária de DP ( $r^2 = 0,92$ ), indicando constância da concentração urinária tanto de creatinina quanto de DP ao longo do dia, o que torna possível a utilização da amostra *spot* para estimar a excreção diária de DP.

Pereira (2009) recomendou os horários de aproximadamente 8h00 e 16h00 que corresponderiam às coletas *spot* de urina logo após as alimentações para novilhos nelore. No presente trabalho, verificou-se que as estimativas de excreções de DP e de uréia obtidas a partir dessas recomendações não diferiram da de 24h para vacas leiteiras.

Constatou-se influência dos tratamentos quanto às relações alantoina: creatinina, ácido úrico: creatinina, derivados de purina: creatina e uréia: creatinina. Este fato pode estar relacionado com a maior produção microbiana para os animais de maior consumo de MS. Sendo que os animais dos diferentes tratamentos (Alta, média e Baixa), consumiram diferentes proporções de volumoso e concentrado, devido ao fornecimento de concentrado ser de acordo com a produção de leite.

Embora não tenha encontrado diferença na relação uréia: creatinina, nota-se na Tabela 7 que os valores são bastante distantes. Porém, Pereira (2009) trabalhando com novilhas nelore distribuídas em três grupos em função do peso corporal (Baixo, Médio, Alto) detectou efeito significativo ( $P < 0,05$ ) dos períodos de coleta *spot* de urina sobre a relação uréia: creatinina que foi avaliada obtendo-se dois pontos diários que ficaram bem próximos aos horários das alimentações (08h00 e 16h00).

Segundo Valadares Filho & Valadares (2001), o requerimento protéico de vacas lactantes é atendido mediante a absorção de aminoácidos pelo intestino delgado, provenientes de duas principais fontes que são a proteína microbiana verdadeira digestível (PMVd) e a proteína não degradada no rúmen digestível (PNDRd), denominada de proteína metabolizável.

Diante de tais qualidades, dos fatores que tem sido reconhecidos como mais importantes que afetam a síntese de proteína microbiana e conseqüentemente a excreção dos derivados de purinas, seria a disponibilidade e a sincronização entre energia e compostos nitrogenados (N) no rúmen (Russell et al., 1992).

Tabela 7 – Médias e probabilidade (P), obtidas relações de alantoina: creatinina (Ala:Cre), ácido úrico: creatinina (AcU:Cre), derivados de purina: creatinina (DP:Cre) e uréia: creatinina (Ure:Cre), para os diferentes tempos de coleta spot de urina e coleta de urina total de 24 horas em função das produções de leite e tempos de coleta

Item	Tratamentos			P	Tempos				P	Trat x Tempo P
	ALTA	MÉDIA	BAIXA		8h	12h	16h	24h		
Ala:Cre	2,13 <sup>a</sup>	1,82 <sup>b</sup>	0,96 <sup>c</sup>	<0,0001	1,65 <sup>a</sup>	1,63 <sup>a</sup>	1,64 <sup>a</sup>	1,64 <sup>a</sup>	0,7437	0,622
AcU:Cre	0,49 <sup>a</sup>	0,37 <sup>b</sup>	0,26 <sup>c</sup>	<0,0001	0,37 <sup>a</sup>	0,37 <sup>a</sup>	0,38 <sup>a</sup>	0,37 <sup>a</sup>	0,7437	0,1507
DP:Cre	2,62 <sup>a</sup>	2,18 <sup>b</sup>	1,22 <sup>c</sup>	<0,0001	2,02 <sup>a</sup>	1,99 <sup>a</sup>	2,01 <sup>a</sup>	2,01 <sup>a</sup>	0,6706	0,5522
Ure:Cre	38,73 <sup>a</sup>	18,13 <sup>b</sup>	7,42 <sup>c</sup>	0,0043	23,07 <sup>a</sup>	22,15 <sup>a</sup>	17,4 <sup>a</sup>	23,08 <sup>a</sup>	0,1747	0,5283

<sup>a, b, c</sup> - Médias, na linha, seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste t a 5% de probabilidade;

A síntese ruminal de proteína microbiana e, por conseguinte, a excreção de DP está relacionada ao consumo de matéria orgânica digestível (MOD) e nutrientes digestíveis totais (NDT), conforme pode ser observado nas Figuras 6 e 7, respectivamente.

Segundo Pina et al. (2010), nos atuais sistemas de avaliação de proteína para ruminantes, a produção microbiana é calculada a partir da quantidade de energia ou matéria orgânica degradável, aplicando-se fatores fixos ou variáveis para a produção microbiana por unidade de energia ou matéria orgânica degradada.

Quando a excreção urinária diária de DP, mmol/dia, foi relacionada ao consumo de matéria orgânica digestível (kg/dia), observou-se relação linear positiva ( $P < 0,01$ ), assim como foi apresentado por Mo et al. (2004); Soejono et al. (2004) e Barbosa et al. (2011). A regressão apresentada na Figura 6 indica que houve excreção de 25,50 mmol de DP para cada kg de MO digerida.

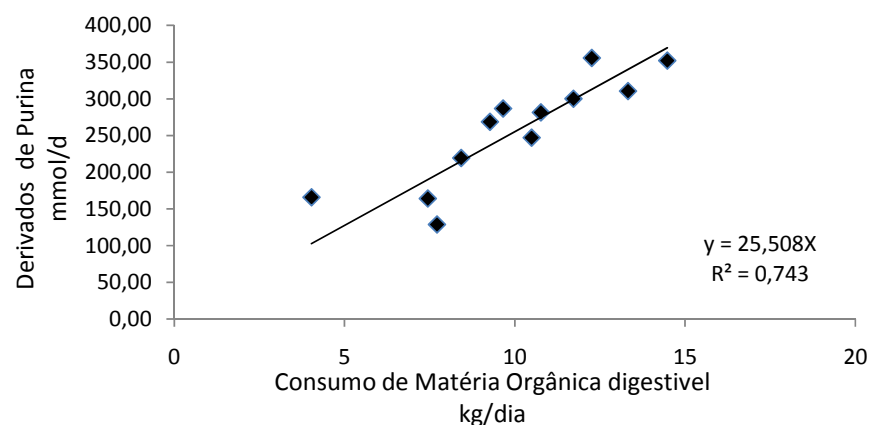


Figura 6- Relação entre a excreção de derivados de Purinas (DP, mmol/ dia) na urina e o consumo de matéria orgânica digestível ( kg/dia), com a respectiva equação.

Quando a excreção de derivados de purina, expressa em mmol/dia, foi relacionada com o consumo de nutrientes digestíveis totais (NDT, kg/dia), obteve-se a regressão apresentada na Figura 7. Observa-se que houve excreção de 24,07 mmol de DP, para

cada kg de NDT consumido. Apesar dessa equação poder vir a ter aplicação prática, ela necessita de mais informações para validar.

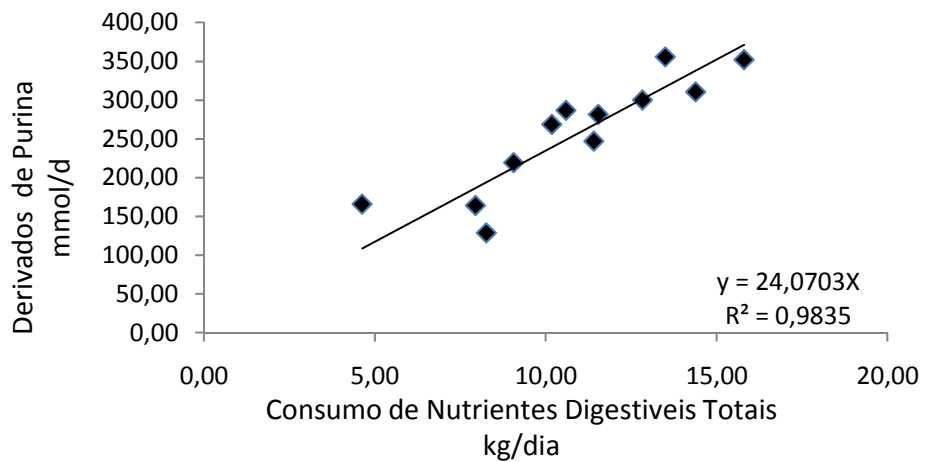


Figura 7- Relação entre a excreção de derivados de purinas (DP, mmol/dia) na urina e o consumo de nutrientes digestíveis totais (CNDT, kg/dia), com a respectiva equação.

A importância em se estimar as perdas endógenas se dá visto que, subtraindo este valor da excreção total de purinas consegue-se quantificar a produção de proteína microbiana. Considerando a relação obtida entre a excreção de DP em  $\text{mmol/kgPC}^{0,75}$  e o consumo de matéria seca expresso em  $\text{g/kgPC}^{0,75}$ , obteve-se a equação descrita na Figura 8. Observa-se que o valor de  $0,237 \text{ mmol/kgPC}^{0,75}$ , representa a excreção endógena de DP. Esse valor foi próximo ao  $0,242 \text{ mmol/kgPC}^{0,75}$  encontrado por Barbosa et al. (2011), porém trabalhando com novilhas Nelore. Contudo, as contribuições endógenas para excreção de derivados de purinas em vacas holandesas secas estimadas por Orellana Boero et al. (2001) foram de  $0,235 \text{ mmol/kgPC}^{0,75}$ , usando a técnica de diluição do isótopo,  $\text{N}^{15}$ . Já Gonzalez-Ronquillo et al. (2003), usando a mesma técnica ( $\text{N}^{15}$ ), estimaram a fração endógena de  $0,512 \text{ mmol/kgPC}^{0,75}$  em vacas holandesas lactantes.

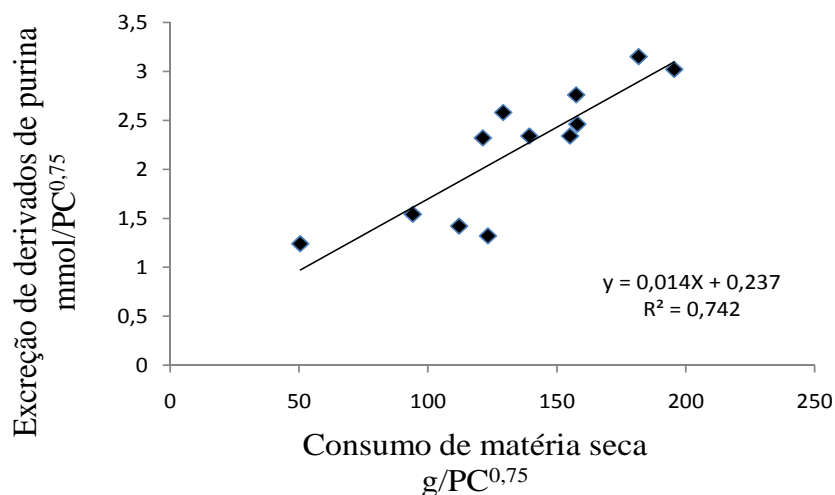


Figura 8- Relação entre a excreção de derivados de purina na urina, mmol/kgPC<sup>0,75</sup>, e o consumo de MS, em g/PC<sup>0,75</sup>.

A excreção endógena, apesar de constituir importante parâmetro na modelagem da excreção de DP (Chen & Orskov, 2003; Gonzalez-Ronquillo et al., 2003) é de difícil quantificação em animais intactos (Fujihara et al., 1987), devido as limitações para eliminar a contribuição dos microrganismos ruminais sob condições fisiológicas em ruminantes (Chen et al., 1990). Verifica-se grande variação nos valores de excreção endógena descritos na literatura, de 0,146 a 0,514 mmol/kgPC<sup>0,75</sup>, o que pode ser atribuído aos diferentes métodos adotados. A utilização de modelos de regressão linear parece ser promissor, evitando-se os efeitos adversos do jejum e da alimentação intragástrica.

## CONCLUSÕES

As excreções de derivados de purinas e conseqüentemente de compostos nitrogenados microbianos são maiores para os animais de Alta produção.

A coleta *spot* pode ser utilizada para estimar a excreção diária de derivados de purinas na urina em vacas, independentemente do nível de produção de leite e dos tempos de amostragem.

Tanto o consumo de NDT quanto o de MOD podem ser utilizados com o intuito de estimar a excreção dos derivados de purina urinários.

A excreção endógena de derivados de purina em vacas lactantes produzindo de 11,07 a 33,50 kg de leite por dia é de  $0,237 \text{ mmol/kgPC}^{0,75}$ .

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ALMEIDA, R. G. **Saccharina em dietas para vacas lactantes**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1997. 52p. dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1997.
- BAKER, L.D.; FERGUSON, J.D.; CHALUPA, W. Responses in urea and true protein of milk to different protein feeding schemes for dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.78, p.2424-2434, 1995.
- BARBOSA, A. M.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. C.; PINA, D. S.; DETMANN, E.; LEÃO, M. I. Endogenous fraction and a urinary recovery of purine derivatives obtained by different methods in Nellore cattle. **Journal of Animal Science**, v.89, p. 510-519, 2011.
- BRODERICK, G. A. Use of milk urea as an indicator of nitrogen utilization in lactating dairy cow. USDA, **Agricultural Research Service**. US Dairy Forage Research Center, Research Summaries, 122p. 1995.
- BRODERICK, G. A.; CLAYTON, M. K. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.11, p.2964-2971, 1997.
- BUTLER, W. R.; CHERNEY, D. J. R.; ELROD, C. C. Milk urea nitrogen (MUN) analysis: field trial results on conception rates and dietary inputs. In: CORNELL PROCEEDINGS CONFERENCE, 1., 1995. Ithaca. **Proceedings...**Ithaca: Cornell University, p.89-95. 1995.
- CASALI, A. O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.37, n.2, p.335-342, 2008.

- CHEN, X. B.; MATHIESON, F. D. D. H.; REEDS, P. J. Measurements of purine derivatives in urine of ruminants using automated methods. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.53, n.1, p.23-33, 1990.
- CHEN, X. B.; MEJIA, A. T.; KYLE, D. J.; ORSKOV, E. R. Evaluation of the use of the purine derivative: creatinine ratio in *spot* urine and plasma samples as an index of microbial protein supply in ruminants: studies in sheep. **Journal of Agricultural Science**, v.125, p.137-143, 1995.
- CHEN, X. B.; ORSKOV, E. R. Research on urinary excretion of purine derivatives in ruminants: past, present and future. **International Feed Resources Unit**, Macaulay Land Use Research Institute, Craigiebuckler, Aberdeen AB15 8QH, United Kingdom. 2003.
- 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. **International Feed Research Unit**. Rowett Research Institute, Aberdeen, UK. (Occasional publication). p.21, 1992.
- CHIZZOTI, M. L.; VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D. et al., Excreção de Creatinina em vacas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41. 2004, Campo Grande, MS. **Anais...** CD-ROM. Nutrição de ruminantes. 2004.
- CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D.; MARTINS CHIZZOTTI, F. H.; MARCONDES, M. I.; FONSECA, M. A. Consumo, digestibilidade e excreção de ureia e derivados de purinas em vacas de diferentes níveis de produção de leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.138-146, 2007.

- 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, p.2304-2323, 1992.
- CLAYPOOL, D.W.; PANGBORN, M.C.; ADAMS, H.P. Effects of dietary on high-producing dairy cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v.63, p.6833-837, 1980.
- DETMANN, E.; PAULINO, M. F.; ZERVOUDAKIS, J. T.; VALADARES FILHO, S. C.; EUCLYDES, R.F.; LANA, R. P.; QUEIROZ, D. S. Cromo e indicadores internos na determinação do consumo de novilhos mestiços, suplementados, a pasto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.1600-1609, 2001.
- EICHER, R.; BOUCHARD, E.; BIGRAS-POULIN, M. Factors affecting milk urea nitrogen and protein concentrations in Quebec dairy cows. **Preventive Veterinary Medicine**, v.39, p.53-63, 1999.
- EIFERT, E.C.; LANA, R.P.; LANNA, D.P.D.; LEOPOLDINO, W.M.; OLIVEIRA, M.V.M.; ARCURI, P.B.; CAMPOS, J.M.S.; LEÃO, M.I.; VALADARES FILHO, S.C. Consumo, produção e composição do leite de vacas alimentadas com óleo de soja e diferentes fontes de carboidratos na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.1, p.211-218, 2006.
- FERGUSON, J.D. [About MUN. Documento eletrônico publicado em 1997 na internet]. Disponível em <http://www.dhiqa.psu.edu/mun.htm>.
- FRANK B.; SWENSSON, C. Relationship between content of crude protein in rations for dairy cows and milk productions, concentration of urea in milk and ammonia emissions. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.1829-1838, 2002.
- FREEDEN A. H.; Considerations in the Milk nutritional modification of Milk composition. **Animal Feed Science and Technology**, 59:185-197. 1996.

- FUJIHARA, T.; ORSKOV, E.R.; REEDS, P.J.; KYLE, D. J . The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agricultural Science**, v.109, n.1, p.7-12, 1987.
- GEORGE , S. K.; DIPU, M. T.; MEHRA, U. R.; SINGH, P.; VERMA, A. K.; RAMGAOKAR, J.S. Improved HPLC method for the simultaneous determination of allantoin, uric acid and creatinine in cattle urine. **Journal of Chromatography B**, 832 p. 134–137, 2006.
- GONDA, H.L.; LINDBERG, J.E. Effect of diet on milk allantoin and its relationship with urinary allantoin in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.2, p.364-373, 1997.
- GONZÁLEZ, F.H.D. Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação. In: USO DO LEITE PARA MONITORAR A NUTRIÇÃO E O METABOLISMO DE VACAS LEITEIRAS, 1., 2001, Passo Fundo. **Anais...** Porto Alegre: p.5-21. 2001.
- GONZALEZ, H,L; FISCHER, V, RIBEIRO, M.E.R; GOMES, J.F; STUMPF, W .; SILVA, M. A. Avaliação da Qualidade do Leite na Bacia Leiteira de Pelotas, RS. Efeito dos Meses do Ano. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.33, n.6, p.1531-1543, 2004.
- GONZALEZ-RONQUILLO, M.; BALCELLS, J.; BELENGUER, A.; CASTRILLO, C.; MOTA, M. A comparasion of purine derivatives excretion with conventional methods as índices of microbial yield in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.2211-2221, 2004.
- GONZALEZ-RONQUILLO, M.; BALCELLS, J.; GUADA, J.A.; VICENTE, F. Purine derivative excretion in dairy cows: Endogenous excretion and the effect of exogenous nucleic acid supply. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.4, p.1282-1291, 2003.
- 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**, v.76, n.2, p.475-484, 1993.

- HALL, M.B. **Calculation of non-structural carbohydrate content of feeds that contain non-protein nitrogen.** Gainesville: University of Florida, P.A-25 (Bulletin, 339) 2000.
- HARMEYER, J., MARTENS, H. Aspects of urea metabolism in ruminants with reference to the goat. **Journal of Dairy Science.** 63(10):1707-1728.1980.
- HENNESSY, D.W., KOHUN, P.J., WILLIANSOON, P.J. BROWN, D.A.; NOLAN, J.V. The effect of nitrogen and protein supplementation on feed intake, growth and digestive function of steers with different *Bos indicus*, *Bos taurus* genotypes when fed a low quality grass hay. **Australian Journal of Agricultural Research.** 46(6):1121-1236. 1995.
- IDF – INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Whole milk. Determination of milkfat, protein and lactose content Guide for the operation of mid-infra-red instruments.** Bruxelles: p. 12, 1996. (IDF Standard 141 B).
- JONKER, J.S., KOHN, R.A., ERDMAN, R.A. Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science,** 81:2681-2692.1998.
- JONKER, J.S.; KOHN, R.A.; ERDMAN, R.A. Milk urea nitrogen target concentrations for lactating dairy cows fed according to national research council recommendations. **Journal of Dairy Science,** v.82, n.6, p.1261-1273, 1999.
- KAPS, A.; LAMBERSON, W. **Biostatistics for animal science.** Cambridge: CABI Publishing, 445p. 2004.
- MACHADO, P.F.; CASSOLI, L.D.; COLDEBELLA, A. et al. Panorama da qualidade do leite na Região Sudeste: São Paulo. In: BRITO, J.R.; PORTUGAL, J.A (Eds.) **Diagnóstico da qualidade do leite, impacto para a indústria e a questão dos resíduos de antibióticos.** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, p.39-48. 2003.

- MALAFAIA, P.A.M.; VALADARES FILHO, S.C.; COELHO DA SILVA, J.F. et al. Sebo bovino em rações para vacas em lactação 1. Consumo dos nutrientes, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.25, n.1, p.153- 163, 1996.
- MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beaker or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.85, p.1217-1240, 2002.
- MO, F.; WANG, Y.X.; XING, Z.; YANG, Y.F. CHEN, X. B. The effect of different levels of feed intake on the urinary excretion of purine derivatives in Chinese yellow cattle. In: MAKKAR, H.P.S and CHEN, X.B. **Estimation of microbial protein Suplly in ruminants using purine derivatives**, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p.56-62, 2004.
- MOREIRA, A.L.; PEREIRA, O.G.; GARCIA, R. Produção de leite, consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes, pH e concentração de amônia ruminal em vacas lactantes recebendo rações contendo silagem de milho e feno de alfafa e de capim *coastcross*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.3, p.1089-1098, 2001.
- OBARA, Y.; DELLOW, D.W.; NOLAN, J.V. The influence of energy-rich supplements on nitrogen kinetics in ruminants In: TSUDA, T.; SASAKI, Y.; KAWASHIMA, R. (Eds.) **Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants**. Tokyo: Academic Press, p.515-539.1991.
- OLIVEIRA, A.S.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C.; 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.

- OLTNER, R.; WIKTORSSON, H. Urea concentration in milk and blood as influenced by feeding varying amounts of protein and energy to dairy cows. **Livestock Production Science**, v.10, p.457-467, 1983.
- ORELLANA BOERO, P.; BALCELLS, J.; MARTÍN-ORÚE, S.M.; LIANG, J.B.; GUADA, J. A. Excretion of purine derivatives in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. **Livestock Production Science**, v.68, p.243-250, 2001.
- PEIXOTO JR., K.C. **Nitrogênio uréico do leite como indicador de desempenho reprodutivo de rebanhos leiteiros**. São Paulo, 2003.89p. Tese (doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.
- PEREIRA, V. S. A. **Influência do peso corporal e das características de carcaça sobre a excreção de creatinina e utilização de coleta *spot* de urina para estimar a excreção de derivados de purina e de compostos nitrogenados em novilhas nelore**. 2009. 51f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais.
- PEREZ, J.F.; BALCELLS, J.; GUADA, J.A. Determination of rumen microbial nitrogen production in sheep:a comparison of urinary purine excretion with methods using <sup>15</sup>N and purine bases as markers of microbial-nitrogen entering the duodenum. **British Journal of Nutrition**, 75:699-709. 1996.
- PINA, D. S.; VALADARES FILHO, S.C.; AZEVÊDO, J.A.G. ; BARBOSA, A. M. ; VALADARES, R.F.D ; Detmann, E .Níveis de inclusão e tempos de exposição do óxido de cálcio à cana-de-açúcar sobre parâmetros digestivos e fisiológicos de novilhas Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia / Brazilian Journal of Animal Science** v. 39, p. 1579-1586, 2010.
- RENNÓ, L.N. **Consumo, digestibilidade total e parcial, produção microbiana, parâmetros ruminais e excreções de uréia e creatinina em novilhos alimentados com dietas**

- contendo quatro níveis de uréia ou dois de proteína.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 252p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2003.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F. et al. Indicadores interno ou externo e efeito da contaminação da fibra em detergente neutro sobre a digestibilidade aparente total em novilhos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife. **Anais...Recife, 2002.** (CD-ROM). Nutrição de ruminantes.
- RIBAS, N.P.; PAULA, M.C.; ANDRADE, U.V.C. et al. Sólidos totais em amostras de leite de tanques nos estados de Santa Catarina, Paraná e São Paulo. In: BRITO, J.R.; PORTUGAL, J.A. (Eds.) **Diagnóstico da qualidade do leite, impacto para a indústria e a questão dos resíduos de antibióticos.** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, p.19-26. 2003.
- ROSELER, D.K.; FERGUSON, J.D.; SNIFFEN, C.J.; HERREMA, J. Dietary protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk no protein nitrogen in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.525-534, 1993.
- RUSSELL, J.B.; O'CONNOR, J.D.; FOX, D.G.; VAN SOEST, P.J.; SNIFFEN, C.J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminant fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3551-3561, 1992.
- SANTOS, G.T.; CAVALIERI, F.L.B.; MODESTO, E.C. Recentes avanços em nitrogênio não protéico na nutrição vacas leiteiras. In: Sinleite - Novos Conceitos em Nutrição, 2., 2001, Lavras. **Anais... Lavras: Universidade Federal de Lavras, p.225-248.** 2001.
- SCHEPERS, A.J.; MEIJER, R.G.M. Evaluation of the utilization of dietary nitrogen by dairy cows based on urea concentration in milk. **Journal of Dairy Science**, 81:579-584.1998.

- SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos – métodos químicos e biológicos**. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, p.235, 2002.
- SILVA, R.M.N.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C.; CECON, P.R.; RENNÓ, L.N.; SILVA, J.M. 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, 2001.
- SNIFFEN, C. J.; ROBINSON, P. H. Microbial growth and flow as influenced by dietary manipulations. **Journal of Dairy Science**, v. 70, n. 2, p. 425-441, 1987.
- SOEJONO, M.; YUSIATI, L.M.; BUDHI, B.P. et al. Purine derivative excretion and recovery of <sup>14</sup>C-uric acid in urine of Ongole cattle given different levels of feed intake. In: MAKKAR, H.P.S and CHEN, X.B. **Estimation of microbial protein Suplly in ruminants using purine derivatives**, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p.56-62, 2004.
- THOMSON, D.U., PRESTON, R.L., BARTLE, S.J. Influence of protein source and level on the performance, plasma urea nitrogen and carcass characteristics of finishing beef steers. **Journal of Animal Science**. 73(1):257. 1995.
- VALADARES FILHO, S. de C.; VALADARES, R. F. D. Recentes Avanços em Proteína na Nutrição de Vacas Leiteiras. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DE BOVINOCULTURA DE LEITE- SINLEITE, 2, 2001, Lavras: UFLA,. p.228-243, 2001.
- VALADARES, R.F.D., BRODERICK, G.A., VALADARES FILHO, S.C.; CLAYTON, M. K. Efect of replacing alfafa silage with high moisture com on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**. V. 82, p.2686-2696, 1999.

VALADARES, R.F.D., GONÇALVES, L.C., SAMPAIO, I.B. et al. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 2. Consumos, digestibilidades e balanços de compostos nitrogenados. **Revista Brasileira de Zootecnia**. 26 (6):1259-1263. 1997.

# Apêndice

Tabela 1.A- Produções diárias de leite (PL), teores de gordura (%G), proteína bruta (PB) e lactose do leite, eficiência de utilização de nitrogênio para produção de leite (ENL), os consumos diários de matéria seca (CMS), matéria orgânica (CMO), proteína bruta (CPB), extrato etéreo (CEE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas (CFDNcp), carboidratos não-fibrosos (CCNF), nutrientes digestíveis totais (CNDT) e nitrogênio (CN), em kg/dia e em % PC, para os diferentes níveis de produção de leite

NºAni	Trat	PL(kg)	G(%)	PB(%)	Lact(%)	ENL(kg)	CMS	CMO	CPB	CEE	CFDNcp	CFDNi	CCNF	CNDT(kg)	CN(kg)	CMS(%PC)	CFDNcp(%PC)	CFDNi(%PC)	Peso(kg)
6030	Alta	40,00	3,13	2,85	4,81	0,35	20,49	19,24	3,27	0,44	6,55	1,83	9,35	13,02	0,524	3,76	1,20	0,34	545
7018	Alta	31,96	3,02	2,75	4,82	0,29	17,15	16,06	3,02	0,35	4,97	1,37	8,09	12,07	0,483	3,30	0,96	0,26	520
4027	Alta	28,42	3,79	2,93	3,79	0,26	19,95	18,73	3,17	0,43	6,34	1,78	9,13	13,91	0,507	3,15	1,00	0,28	634
3033	Alta	33,56	2,85	3,16	4,52	0,32	22,78	21,41	3,33	0,53	7,59	2,15	10,21	15,32	0,533	4,00	1,33	0,38	569
7045	Média	14,22	.	3,07	4,11	0,21	14,04	13,19	2,11	0,32	4,72	1,34	6,26	9,86	0,337	2,49	0,84	0,24	564
6019	Média	24,54	2,71	2,88	4,32	0,31	16,40	15,64	2,27	0,38	5,90	1,70	7,22	11,09	0,363	3,28	1,18	0,34	500
7005	Média	17,56	3,30	3,31	4,54	0,26	16,74	15,76	2,21	0,39	6,02	1,73	7,24	11,22	0,354	2,82	1,01	0,29	593
6016	Média	17,44	3,04	3,05	4,45	0,26	14,37	13,52	2,06	0,34	4,79	1,36	6,49	10,27	0,330	2,69	0,90	0,25	535
4001	Baixa	6,52	3,20	3,60	3,89	0,26	6,74	4,95	0,90	0,15	1,68	0,67	2,51	4,43	0,143	0,99	0,25	0,10	683
6024	Baixa	12,40	5,14	3,64	4,38	0,33	12,95	12,24	1,37	0,33	5,37	1,61	5,21	7,79	0,218	2,30	0,95	0,29	563
9062	Baixa	9,40	3,16	3,76	4,36	0,25	13,40	12,35	1,42	0,33	5,38	1,61	5,29	8,90	0,228	1,80	0,72	0,22	743
8005	Baixa	16,02	3,81	3,56	5,06	0,45	12,00	11,33	1,28	0,30	4,92	1,47	4,86	8,10	0,205	2,68	1,10	0,33	448

Tabela 2.A- Coeficientes de digestibilidade aparente total da matéria seca (DMS), matéria orgânica (DMO), proteína bruta (DPB), extrato etéreo (DEE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (DFDNcp), carboidratos não-fibrosos (DCNF) e teores de nutrientes digestíveis totais (NDT), para os diferentes níveis de produção de leite

NºAni	Trat	DMS	DMO	DPB	DEE	DFDNcp	DCNF	NDT
6030	Alta	61,76	63,72	58,67	66,94	53,069	74,44	63,52
7018	Alta	72,05	73,00	74,26	75,85	54,414	80,61	70,39
4027	Alta	68,73	71,15	68,29	71,61	55,085	82,78	69,69
3033	Alta	65,73	67,64	62,37	77,47	55,448	79,47	67,27
7045	Média	68,40	70,30	66,34	81,53	58,404	81,86	70,23
6019	Média	64,48	67,11	57,10	73,07	58,481	79,05	67,61
7005	Média	66,41	68,32	59,90	73,65	59,029	78,75	67,00
6016	Média	69,97	71,45	63,01	80,93	60,497	84,04	71,47
4001	Baixa	84,12	81,51	79,33	87,54	70,531	89,16	65,61
6024	Baixa	58,59	60,83	40,41	78,21	54,932	71,16	60,12
9062	Baixa	67,33	68,24	59,40	79,55	60,341	79,58	66,45
8005	Baixa	66,61	68,10	54,58	82,18	59,122	81,02	67,52

Tabela 3.A- Volume urinário diário, concentrações de nitrogênio uréico no plasma (NUP) e no leite (NUL) e excreções de N total no leite (NL), de nitrogênio uréico no leite (NUL), de N total urinário (NU), de nitrogênio uréico na urina (NUU) e balanço de nitrogênio (BN) para os diferentes níveis de produção de leite

N°Ani	Trat	Peso	Vol.Urinário	Uréia Leite MÉDIA(mg/dL) dia 14	NUL (mg/dL) dia 14	NUL (g/dia) dia 14	Uréia Leite MÉDIA(mg/dL) dia 15	NUL (mg/dL) dia 15	NUL (g/dia) dia 15
6030	Alta	545	20,65	27,05	12,62	4,89	35,41	16,52	6,39
7018	Alta	520	23,61	45,89	21,42	6,62	47,88	22,35	6,91
4027	Alta	634	16,55	28,72	13,40	3,69	29,73	13,88	3,82
3033	Alta	569	33,77	26,29	12,27	3,98	26,01	12,14	3,94
7045	Media	564	14,46	22,41	10,46	1,44	27,22	12,70	1,75
6019	Media	500	15,93	31,38	14,64	3,48	32,49	15,16	3,60
7005	Media	593	20,70	21,81	10,18	1,73	28,19	13,16	2,24
6016	Media	535	18,12	23,63	11,03	1,86	37,43	17,47	2,95
4001	Baixa	683	9,84	29,18	13,62	0,86	18,80	8,77	0,55
6024	Baixa	563	72,36	17,55	8,19	0,98	17,24	8,05	0,97
9062	Baixa	743	26,25	21,20	9,89	0,90	24,39	11,38	1,04
8005	Baixa	448	15,85	15,27	7,13	1,10	16,45	7,68	1,19

NºAni	Trat	Peso	Prod.Leite	Média dia 14 e 15 NUL mg/dL	Média dia 14 e 15 NUL g/dia	Uréia Plasma Média (mg/dL)	NUP (mg/dL)
6030	Alta	545	40,00	14,57	5,64	32,00	14,94
7018	Alta	520	31,96	21,88	6,77	30,04	14,02
4027	Alta	634	28,42	13,64	3,75	23,11	10,79
3033	Alta	569	33,56	12,20	3,96	20,25	9,45
7045	Media	564	14,22	11,58	1,59	24,74	11,55
6019	Media	500	24,54	14,90	3,54	23,47	10,95
7005	Media	593	17,56	11,67	1,98	22,00	10,27
6016	Media	535	17,44	14,25	2,40	28,24	13,18
4001	Baixa	683	6,52	11,19	0,71	10,41	4,86
6024	Baixa	563	12,40	8,12	0,97	11,58	5,41
9062	Baixa	743	9,40	10,64	0,97	10,52	4,91
8005	Baixa	448	16,02	7,40	1,15	10,43	4,87

N°Ani	Trat	Peso	Prod.Leite	Uréia Urina Média (mg/dL)	NUU(g/dia)	Urina NT (%) Média	NT (g/dia)	NL (g/dia)	BN(g/dia)	BN % inge (g/dia)
6030	Alta	545	40,00	989,93	95,40	0,47	97,24	182,40	27,61	5,27
7018	Alta	520	31,96	1381,72	152,23	0,70	165,69	140,62	21,09	4,36
4027	Alta	634	28,42	1786,57	138,02	0,81	134,38	133,23	78,72	15,47
3033	Alta	569	33,56	830,60	130,92	0,44	149,23	169,68	13,57	2,51
7045	Media	564	14,22	1543,66	104,17	0,75	108,59	69,85	45,06	13,17
6019	Media	500	24,54	898,51	66,81	0,61	97,06	113,08	9,56	1,00
7005	Media	593	17,56	572,01	55,26	0,37	75,86	93,00	43,35	12,18
6016	Media	535	17,44	851,49	72,02	0,52	94,37	85,11	28,15	8,44
4001	Baixa	683	6,52	1833,58	84,16	0,99	97,37	37,56	-41,08	-30,85
6024	Baixa	563	12,40	114,93	38,81	0,07	53,41	72,22	-37,48	-17,45
9062	Baixa	743	9,40	217,84	26,69	0,24	63,80	56,55	19,59	8,18
8005	Baixa	448	16,02	178,66	13,22	0,22	34,25	91,25	-13,82	-7,18

Tabela 4.A- Excreções diárias de creatinina (Cre) na urina, alantoína (Ala), ácido úrico (AcU), alantoína no leite (Alal), derivados de purinas (DP), quantidades de purinas absorvidas (Pabs), produção de nitrogênio microbiano (Nmic), proteína microbiana sintetizada no rúmen (PB mic), eficiência de síntese microbiana em g de proteína microbiana por quilo de nutrientes digestíveis totais consumido (gPBmic/kg NDT) para os diferentes níveis de produção de leite

NºAni	Trat	Cre <sup>1</sup>	Cre <sup>3</sup>	Cre <sup>5</sup>	Ala <sup>1</sup>	Ala <sup>3</sup>	AlaL <sup>1</sup>	AcU1	AcU <sup>3</sup>	DP <sup>1</sup>	DP <sup>3</sup>	Pabs <sup>2</sup>	Nmic <sup>2</sup>	PBmic <sup>1</sup>	gPBmic/kgNDT <sup>4</sup>
6030	Alta	122,43	0,22	25,41	289,26	0,53	4,76	61,56	0,11	355,59	0,65	411,07	298,86	1867,90	143,46
7018	Alta	117,76	0,23	25,62	237,85	0,46	3,43	58,76	0,11	300,04	0,58	342,79	249,22	1557,64	129,05
4027	Alta	130,81	0,21	23,34	247,10	0,39	3,51	59,87	0,09	310,47	0,49	350,66	254,95	1593,43	114,55
3033	Alta	134,34	0,24	26,71	286,45	0,50	4,19	61,35	0,11	351,99	0,62	405,47	294,80	1842,48	120,27
7045	Média	121,20	0,21	24,31	220,28	0,39	1,65	46,66	0,08	268,60	0,48	301,46	219,17	1369,84	138,93
6019	Média	108,26	0,22	24,49	204,02	0,41	4,30	38,62	0,08	246,95	0,49	277,36	201,65	1260,32	113,64
7005	Média	130,55	0,22	24,90	232,61	0,39	2,70	46,09	0,08	281,40	0,47	316,15	229,86	1436,60	128,04
6016	Média	125,15	0,23	26,46	235,61	0,44	3,06	48,00	0,09	286,67	0,54	325,38	236,56	1478,53	143,97
4001	Baixa	141,83	0,21	23,49	124,15	0,18	0,67	40,92	0,06	165,75	0,24	167,60	121,86	761,60	171,92
6024	Baixa	127,19	0,23	25,56	123,59	0,22	1,47	38,96	0,07	164,02	0,29	170,78	124,17	776,05	99,62
9062	Baixa	166,86	0,22	25,40	179,80	0,24	1,28	38,19	0,05	219,26	0,3	231,92	168,62	1053,85	118,41
8005	Baixa	102,76	0,23	25,95	101,64	0,23	2,30	24,72	0,06	128,66	0,29	131,97	95,95	599,69	.

<sup>1</sup> -mmol/dia; <sup>2</sup> - g/dia; <sup>3</sup> - mmol/kgPC; <sup>4</sup> - g de PBmic/kg de NDT consumido; <sup>5</sup> - mg/kgPC.

Tabela 5.A- Relações em mmol/dia de alantoina: creatinina (Ala:Cre), ácido úrico: creatinina (AcU:Cre), derivados de purina: creatinina (DP:Cre) e uréia: creatinina (Ure:Cre), para os diferentes tempos de coleta spot de urina e coleta de urina total de 24 horas em função das produções de leite e tempos de coleta

NºAni	Trat	Ala/Cre24	Ala/Cre8	Ala/Cre12	Ala/Cre16	AcU/Cre24	AcU/Cre8	AcU/Cre12	AcU/Cre16	DP/Cre24	DP/Cre8	DP/Cre12	DP/Cre16	Ure/cre24	Ure/cre8	Ure/cre12	Ure/cre16
6030	Alta	2,36	2,39	2,33	2,28	0,50	0,47	0,46	0,48	2,87	2,86	2,79	2,76	27,80	38,10	28,64	31,98
7018	Alta	2,02	2,09	2,01	2,09	0,50	0,48	0,50	0,51	2,52	2,57	2,51	2,60	46,11	81,58	58,77	64,10
4027	Alta	1,89	2,01	2,04	2,03	0,46	0,49	0,47	0,51	2,35	2,49	2,51	2,53	37,63	30,39	28,71	14,90
3033	Alta	2,13	2,15	2,12	2,16	0,46	0,54	0,49	0,55	2,59	2,68	2,62	2,71	34,76	31,23	43,47	21,45
7045	Média	1,82	1,85	1,82	1,81	0,38	0,39	0,38	0,37	2,20	2,24	2,20	2,17	30,66	17,38	20,56	10,13
6019	Média	1,88	1,77	1,77	1,74	0,36	0,34	0,35	0,34	2,24	2,11	2,12	2,07	22,01	17,99	21,04	16,62
7005	Média	1,78	1,82	1,82	1,85	0,35	0,38	0,36	0,38	2,13	2,20	2,18	2,23	15,10	14,04	16,75	5,86
6016	Média	1,88	1,80	1,80	1,89	0,38	0,39	0,39	0,32	2,27	2,19	2,18	2,21	20,53	19,75	18,14	23,50
4001	Baixa	0,88	0,88	0,72	0,72	0,29	0,29	0,25	0,27	1,16	1,17	0,97	0,99	21,17	6,81	2,93	8,84
6024	Baixa	0,97	0,98	0,97	0,95	0,31	0,29	0,32	0,31	1,28	1,28	1,29	1,27	10,88	10,82	20,06	4,69
9062	Baixa	1,08	1,01	1,10	1,08	0,23	0,22	0,23	0,22	1,31	1,23	1,33	1,30	5,70	4,81	4,14	4,13
8005	Baixa	0,99	1,03	1,01	1,04	0,24	0,21	0,20	0,24	1,23	1,24	1,21	1,28	4,59	3,91	2,57	2,64