



Variações diárias nas excreções de creatinina e derivados de purinas em novilhos¹

Thalita Lázaro Leal², Rilene Ferreira Diniz Valadares³, Sebastião de Campos Valadares Filho⁴, Maria Ignês Leão⁴, Edenio Detmann⁴, Analívia Martins Barbosa⁵, Mário Luiz Chizzotti⁶, Mônica Lopes Paixão⁶

¹ Parte da tese da primeira autora apresentada à UFV para obtenção do título de "Magister Scientiae".

² Faculdades UNICEN - Primavera do Leste, MT.

³ DVT/UFV. Bolsista do CNPq.

⁴ DZO/UFV. Bolsista do CNPq.

⁵ Doutoranda - DVT/UFV.

⁶ Doutorando - DZO/UFV

RESUMO - Objetivou-se estimar as variações nas excreções diárias de creatinina, uréia e derivados de purinas (DP) na urina utilizando coletas durante seis dias consecutivos e avaliar as concentrações de nitrogênio uréico no plasma (NUP) em novilhos. Utilizaram-se quatro animais, machos castrados, de grau de sangue predominantemente Holandês, peso médio de 445 kg, distribuídos em quadrado latino 4 x 4, com os tratamentos definidos em esquema fatorial 2 x 2 (dois níveis de uréia em substituição ao farelo de soja: 0 e 100%; e dois níveis de oferta de concentrado: 0,75 e 1,25% do PV) e a comparação entre dias de avaliação, em esquema de parcelas subdivididas. O volumoso, constituído de silagem de capim-elefante (80%) e silagem de sorgo (20%), foi fornecido à vontade. A síntese de compostos nitrogenados microbianos, estimada a partir da excreção de DP, foi maior quando houve maior oferta de concentrado e menor quando a proteína do farelo de soja foi substituída pela uréia. Não houve efeito da interação níveis de concentrado x níveis de uréia nem efeito de níveis de uréia sobre a concentração de NUP e a excreção de N-uréico na urina. As excreções urinárias de uréia, alantoína, ácido úrico e a quantidade estimada de proteína microbiana não foram afetadas pelos dias de coleta de urina. Não houve diferença na excreção de creatinina entre os dias de coleta, sendo obtido valor médio de 25,47 mg/kgPV, 117,92 mg/kg^{0,75} ou 1,04 mmol/kg^{0,75}. A ausência de efeito de número de dias sobre a excreção de creatinina tem grande aplicação prática. Na estimativa da excreção de creatinina e de derivados de purinas, recomendam-se coletas de urina com duração de 24 horas.

Palavras-chave: coleta de urina, proteína microbiana, volume urinário

Daily variation in the excretion of creatinine and purine derivatives in steers

ABSTRACT - The objective of this trial was to investigate the daily variation in the urinary excretions of creatinine, urea and purine derivatives (PD) as well as the plasma concentration of urea-N (PUN) in steers. Four castrated Holstein steers averaging 445 kg of body weight (BW) in the beginning of the trial were used in a 4 x 4 Latin square design with a 2 x 2 factorial arrangement of treatments. Animals were fed two levels of urea (0 and 100%) and two levels of concentrate (0.75 and 1.25% of BW). Comparisons between collection days were done by a split-plot design. The forage portion of the diet, which was composed by silages of elephant grass (80%) and sorghum (20%) was fed *ad libitum*. Microbial protein synthesis, estimated by urinary excretion of PD, was increased by feeding the high-concentrate diet while the opposite was observed when urea replaced soybean meal in the diet (high-urea diet). No significant interaction between concentrate versus urea levels was found for NUP and urinary excretion of urea-N. Different levels of dietary urea also had not effect on these same variables. Urinary excretions of urea, allantoin, and uric acid and microbial protein synthesis were not affected by the number of urinary collection days. The same was observed for creatinine excretion, which averaged 25.47 mg/kg BW, 117.92 mg/kg^{0.75} or 1.04 mmol/kg^{0.75}. It can be concluded that no more than 24 h (one sampling day) of urine collection was required to accurately determine excretion of nitrogenous compounds, which has important practical applications due to labor and costs reductions.

Key Words: microbial protein, sampling urine, urinary volume

Introdução

O manejo nutricional é um dos principais fatores a serem considerados na produção de bovinos. A alimentação determina a maior parcela dos custos, o que leva

produtores e pesquisadores a utilizarem alimentos de mais baixo custo e que proporcionem aos animais desempenho satisfatório (Valadares Filho et al., 2004).

O objetivo básico nos estudos de alimentação de ruminantes é maximizar a síntese de proteína microbiana, em

virtude de seu excelente balanceamento de aminoácidos (Valadares Filho & Valadares, 2001). Assim, torna-se fundamental o estudo de métodos para estimar a produção de proteína microbiana de forma rápida e rotineira.

Existem vários métodos para medir a produção de compostos nitrogenados microbianos, incluindo a utilização de marcadores internos – bases púricas e ácido 2,6 diaminopimélico (DAPA) – e externos, como ^{15}N e ^{35}S . Entretanto, esses métodos são laboriosos e requerem animais fistulados e a avaliação do fluxo da matéria seca no abomaso. Atualmente, o conforto animal tem recebido destaque na comunidade, havendo crescente interesse na substituição das cânulas implantadas nas diferentes partes do trato gastrointestinal por técnicas não invasivas na condução de experimentos.

As pesquisas ao longo dos últimos anos confirmaram a relação entre produção de proteína microbiana e excreção urinária de derivados de purina (DP). No método de excreção de DP, assume-se que o fluxo duodenal de ácidos nucleicos é predominantemente de origem microbiana e, após digestão intestinal e absorção, os derivados de purinas são excretados proporcionalmente na urina, principalmente na forma de alantoína, mas também como xantina, hipoxantina e ácido úrico (Perez et al., 1996).

A excreção de DP está diretamente relacionada à absorção de purinas, de modo que, conhecendo a relação N purina/N total na massa microbiana (Chen & Gomes, 1992), é possível calcular a produção de N microbiano, desde que a excreção endógena de DP e a relação quantitativa entre a excreção de DP e a absorção de purinas tenham sido previamente determinadas (Verbic et al., 1990; Orellana Boero et al., 2001).

O método baseado na excreção de DP requer coleta total de urina para quantificação da excreção diária dos derivados urinários de purina. Segundo Fleming et al. (1991) e Valadares et al. (1997a), o período de coleta com duração em 24 horas poderia ser representativo da condição excretória do animal.

Contudo, na tentativa de simplificar a obtenção de dados experimentais e eliminar o desconforto causado por funis ou cateteres utilizados na coleta total, tem-se utilizado a creatinina excretada na urina como um indicador para estimativa do volume urinário total. A excreção de creatinina é pouco afetada pelos teores de proteína, carboidratos não-fibrosos ou nitrogênio não-protéico da dieta (Susmel et al., 1994; Vagnoni et al., 1997; Valadares et al., 1997b; Oliveira et al., 2001; Rennó et al., 2002), desse modo, não são esperadas variações decorrentes da dieta.

A estimativa dos requerimentos de proteínas dietéticas para ruminantes é complexa, tendo em vista as alterações a

que são submetidas no rúmen. Portanto, devem ser considerados, além das exigências de proteína para o animal, os requerimentos de N e de energia para a síntese de proteína microbiana. Os teores de nitrogênio uréico plasmático (NUP) têm sido utilizados com a finalidade de fornecer informações adicionais sobre o perfil da nutrição protéica de ruminantes. Assim, podem ser evitadas as perdas econômicas resultantes do fornecimento inadequado de proteína na dieta (decorrentes dos elevados custos desses suplementos) e os possíveis prejuízos produtivos, reprodutivos e ambientais.

Neste trabalho, objetivou-se avaliar as variações nas excreções diárias de creatinina, uréia e derivados de purinas na urina utilizando coletas durante seis dias consecutivos. Avaliaram-se ainda as concentrações de uréia no plasma de novilhos alimentados com dois níveis de substituição da proteína do farelo de soja pela uréia (0 e 100%) e dois níveis de oferta de concentrado (0,75 e 1,25% do PV).

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Animais e no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa – MG.

A cidade de Viçosa está localizada na Zona da Mata de Minas Gerais e tem como coordenadas 20°45'20" de latitude sul e 45°52'40" de longitude oeste de Greenwich e altitude de 657 m. A temperatura média e a precipitação pluviométrica em 2000 e 2001 foram, respectivamente, de 20°C e 1.217,9 mm e 20,7°C e 1148 mm (Universidade Federal de Viçosa, 2002).

Foram utilizados quatro animais, machos castrados, de grau de sangue predominantemente Holandês, com peso vivo médio inicial de 445 kg, mantidos em confinamento em baias individuais cobertas (3 x 3 m), com piso de concreto revestido de borracha, dotadas de comedouros e bebedouros de alvenaria individuais.

Os animais foram distribuídos em um quadrado latino 4 x 4, com os tratamentos definidos por esquema fatorial 2 x 2 (dois níveis de uréia: 0 e 100% em substituição ao farelo de soja; e dois níveis de oferta de concentrado: 0,75 e 1,25% do PV).

A fração volumosa foi constituída de silagem de capim-elefante e silagem de sorgo em uma relação 80:20, respectivamente. A alimentação foi fornecida uma vez ao dia, na forma de ração completa, sendo o volumoso fornecido à vontade, de modo a permitir sobras de no máximo 5%. Diariamente, foram registradas as quantidades de alimentos fornecidos e das sobras de cada animal. As estimativas de consumo e digestão deste experimento foram relatadas por Paixão (2005).

Na Tabela 1 constam a proporção dos ingredientes dos concentrados e, nas Tabelas 2 e 3, a composição dos concentrados, das silagens e das dietas experimentais, respectivamente.

O experimento foi conduzido em quatro períodos experimentais, cada um com 14 dias de duração (oito dias de adaptação e seis para as coletas de urina). Os animais foram pesados no início e ao final de cada período experimental.

A urina foi coletada utilizando-se funis coletores adaptados aos animais, dotados de mangueiras de polietileno que conduziam a urina até galões plásticos contendo 500 mL de solução de ácido sulfúrico a 20%. Ao término de cada período de 24 horas de coleta, foi determinado o peso total do conteúdo do galão, que foi homogeneizado para coletas de amostras. Alíquotas de 40 mL foram coletadas e diluídas com 160 mL de ácido sulfúrico 0,036N para análise de alantoína e ácido úrico. Outras alíquotas de aproximadamente 200 mL foram coletadas, sem proceder à diluição, para determinação dos teores de uréia e creatinina. Devidamente identificadas, as amostras foram armazenadas a -15°C para posteriores análises laboratoriais.

Quatro horas após o fornecimento da dieta, no terceiro dia de coleta de cada período experimental, realizou-se a coleta de sangue via punção da veia jugular, utilizando-se heparina como anticoagulante. As amostras foram imediatamente centrifugadas a 5.000 rpm por 15 minutos para separação do plasma, que, em seguida, foi armazenado a -15°C.

A avaliação da concentração de uréia na urina e no plasma foi realizada segundo o método diacetil modificado

(kits comerciais). A estimativa da concentração de creatinina na urina e no plasma foi realizada utilizando-se kits comerciais (Labtest), pelo método de ponto final, com utilização de picrato e acidificante.

Tabela 2 - Composição química (teores médios) dos concentrados e das silagens

Table 2 - Chemical composition of the concentrates and silages

Item	Concentrado				SC ES	SS SS
	Concentrate					
	0,75% PV 0.75% BW		1,25% PV 1.25% BW			
MS ¹	88,09	87,54	87,44	86,85	32,70	26,52
DM						
MO ¹	94,48	96,41	96,31	97,47	91,71	94,07
OM						
PB ¹	29,87	30,57	20,58	20,71	5,90	6,12
CP						
NIDN ²	7,23	8,30	8,19	8,75	15,90	39,39
NDIN						
NIDA ²	3,93	4,69	4,55	4,95	14,20	11,69
ADIN						
EE ¹	2,09	3,18	2,78	3,35	1,86	2,48
CT ¹	62,52	62,66	72,95	73,41	85,59	84,02
TC						
FDN ¹	12,13	9,28	11,29	9,80	69,81	54,28
NDF						
FDNcp ¹	9,94	7,45	8,88	7,93	64,48	49,16
NDFap						
CNF ¹	52,58	55,21	64,07	65,48	21,11	34,86
NFC						
FDA ¹	6,10	2,54	4,55	2,64	50,10	32,86
ADF						
LIG ¹	1,66	2,27	1,57	1,94	4,52	3,13

SC - silagem de capim-elefante; SS - silagem de sorgo (ES - elephantgrass silage; SS - sorghum silage).

¹ %MS; ² % do N total; Adaptado de Paixão (2005).

¹ %DM; ² % of total N; Adapted from Paixão (2005).

Tabela 1 - Proporção dos ingredientes nos concentrados, com base na matéria natural, para os diferentes tratamentos

Table 1 - Ingredient composition of the concentrate, fresh matter basis

Ingrediente Feed	Concentrado ¹			
	Concentrate			
	0,75% PV 0.75% BW		1,25% PV 1.25% BW	
Fubá de milho, % Corn meal	46,80	89,30	71,80	94,24
Farelo de soja, % Soybean meal	50,20	-	26,40	-
Uréia, % Urea	-	7,00	-	3,60
Sulfato de amônia, % Ammonium sulfate	-	0,70	-	0,36
Sal mineral, % Mineral salt	3,00	3,00	1,80	1,80

Adaptado de Paixão (2005).

Adapted from Paixão (2005).

Tabela 3 - Composição química (teores médios) das dietas experimentais

Table 3 - Chemical composition of the experimental diets

Item	Dieta			
	Diet			
	0,75 FS 0.75% SM	0,75 U 0.75% U	1,25 FS 1.25% SM	1,25 U 1.25% U
MS ¹ (DM)	51,99	51,44	59,89	60,98
MO ¹ (OM)	93,01	93,69	94,28	95,00
PB ¹ (CP)	14,61	14,72	13,38	13,81
NIDN ² (NDIN)	15,75	16,22	14,30	14,28
NIDA ² (ADIN)	10,16	10,49	9,05	9,04
EE ¹	2,02	2,41	2,39	2,71
CT ¹ (TC)	76,36	76,54	78,50	78,46
FDN ¹ (NDF)	46,93	46,25	38,56	36,38
FDNcp ¹ (NDFap)	42,76	42,19	34,73	32,91
CNF ¹ (NFC)	29,45	34,80	39,95	45,55
FDA ¹ (ADF)	31,96	30,94	25,27	23,19
LIG ¹	3,31	3,54	2,88	3,02

FS - farelo de soja; U - uréia (SM - soybean meal; U - urea).

¹ %MS; ² % do N total; Adaptado de Paixão (2005).

¹ %DM; ² % of total N; Adapted from Paixão (2005).

A concentração de N-uréico no plasma (NUP) foi obtida por meio do produto da concentração da uréia, multiplicada por 0,466, correspondente ao teor de N na uréia.

Nas amostras de urina diluída, foram realizadas as análises dos derivados de purinas (alantoína e ácido úrico) pelo método colorimétrico, conforme técnica de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen & Gomes (1992). A excreção de derivados de purinas (DP) na urina em 24 horas foi calculada multiplicando-se o volume urinário em 24 horas pela soma das concentrações de alantoína e ácido úrico na amostra de urina da coleta total.

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

$DP = 0,85 * Pabs + 0,385 * PV^{0,75}$, em que 0,85 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados urinários de purinas e 0,385 PV^{0,75}, a contribuição endógena para a excreção de purinas (Verbic et al., 1990).

O fluxo intestinal de compostos nitrogenados microbianos (Nmic, g N/dia) foi calculado a partir das purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) utilizando-se a equação: $Nmic = (70 * Pabs) / (0,83 * 0,116 * 1000)$, em que 70 corresponde ao conteúdo de N nas purinas (mg N/mmol); 0,83, à digestibilidade das purinas microbianas; e 0,116, à relação N purina:N total dos microrganismos ruminais (Chen & Gomes, 1992).

O experimento foi analisado segundo delineamento quadrado latino 4x4, em esquema fatorial 2x2 (dois níveis de concentrado e dois níveis de uréia no concentrado). A

comparação entre dias de avaliação foi conduzida em esquema de parcelas subdivididas. Para todos os procedimentos estatísticos, adotou-se 0,05 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I.

Resultados e Discussão

Constam na Tabela 4 as médias obtidas para as excreções diárias de creatinina, expressas em mg/kgPV e mg/kg^{0,75}, obtidas nos diferentes níveis de uréia e concentrado na dieta.

Houve efeito da interação (P<0,05) níveis de oferta de concentrado x níveis de inclusão de uréia para a excreção urinária de creatinina, expressa em mg/kgPV ou mg/kg^{0,75}. Dentro de cada nível de concentrado, as excreções de creatinina não variaram com a presença de uréia. Contudo, dentro de cada nível de uréia utilizado, as excreções de creatinina não diferiram (P>0,05), na ausência de uréia (0%), nos níveis de 0,75 e 1,25% de concentrado. No entanto, nas dietas com uréia (100%), as excreções de creatinina foram maiores (P<0,05) no nível de 1,25% de concentrado.

Esses resultados não eram esperados, pois, em várias pesquisas, os resultados para excreções de creatinina mantiveram-se constantes, independentemente do tratamento. Oliveira et al. (2001), em estudo com vacas holandesas alimentadas com dietas com níveis crescentes de uréia, não verificaram diferenças nas excreções de creatinina, que foram em média 23,41 mg/kgPV. A ausência de efeito dos níveis de uréia e de proteína na dieta sobre a excreção de creatinina foi relatada por Rennó (2003), em estudo com novilhos holandeses e mestiços. Ørskov & Macleod (1982) também observaram relativa constância na excreção de creatinina e afirmaram que essa variável é pouco afetada pelo teor de compostos nitrogenados da dieta.

Em outras pesquisas, também não foi constatada influência da dieta sobre a excreção de creatinina (Susmel et al., 1994; Vagnoni et al., 1997; Valadares et al., 1997b; Rennó et al., 2000; Nsahlai et al., 2000; Silva et al., 2001; Chizzotti et al., 2004).

Na Tabela 5 são apresentadas as excreções de creatinina, expressas em mg/kgPV, mg/kg^{0,75} ou mmol/kg^{0,75}, em diferentes dias de coleta total de urina. Não houve diferença (P>0,05) na excreção de creatinina entre os dias de coleta. Valadares et al. (1997a), avaliando a coleta de urina em vacas, não notaram diferenças na excreção de creatinina, expressa em g/h, g/24 h, mg/h/kg^{0,75} e mg/24 h/kg^{0,75}, determinada nos tempos de coleta de 12, 24, 48 e 72 horas, todavia, verificaram menor excreção para a coleta de 96 horas e atribuiu esse resultado a problemas relacionados ao uso de sondas. Assim, recomendaram a utilização da

Tabela 4 - Médias para as excreções diárias de creatinina obtidas nos diferentes níveis de uréia e concentrado na dieta

Table 4 - Means for daily urinary excretions of creatinine in steers fed diets with different levels of urea and concentrate

Nível de uréia (%) ¹ Level of urea	Nível de concentrado (%PV) ¹ Level of concentrate (%BW)	
	0,75	1,25
	mg/kgPV ² mg/kgBW	
0	25,37Aa	26,20Aa
100	23,85Ab	26,48Aa
	mg/kg ^{0,75(3)}	
0	117,34Aa	121,24Aa
100	110,47Ab	122,65Aa

¹ Médias na coluna seguidas de letras maiúsculas diferentes, ou nas linhas seguidas de letras minúsculas diferentes, diferem (P<0,05) pelo teste F.

² Coeficiente de variação (%) = 8,56.

³ Coeficiente de variação (%) = 8,54.

¹ Means in a column followed by different capital letters, or in a row followed by different small letters, differ (P<0.05) by F test.

² Coefficient of variation (%) = 8.56.

³ Coefficient of variation (%) = 8.54.

Tabela 5 - Médias e coeficientes de variação (CV%) obtidos para a excreção de creatinina (EC) nos diferentes dias de coleta de urina
 Table 5 - Means and coefficients of variation (CV%) obtained for the urinary creatinine excretion (CE) in different sampling days

EC ¹ CE	Dias de coleta Sampling days						Média Mean	CV (%)
	1	2	3	4	5	6		
mg/kgPV (mg/kgBW)	25,28	25,39	25,76	25,84	25,74	24,81	25,47	8,56
mg/kg ^{0,75}	117,02	117,58	119,27	119,65	119,16	114,87	117,92	8,54
mmol/kg ^{0,75}	1,04	1,04	1,06	1,06	1,06	1,02	1,04	8,51

¹ Efeito relativo a dias de coletas; não-significativo (P>0,05) pelo teste Scott-Knott.

¹ Effect of sampling days not significant (P>0.05) by Scott-Knott test.

coleta total de 24 horas para determinação da excreção urinária diária.

Ausência de diferença significativa em tempos menores de coleta para excreção de creatinina foi observada por Fleming et al. (1991), ao avaliarem coletas de 6, 12, 18 e 24 horas em vacas adultas pesando 427 a 622 kg. Em pesquisa com os mesmos tempos de coleta, Chizzotti (2004) não encontrou diferença na excreção de creatinina expressa em mg/kgPV, mg/kg^{0,75}, mmol/kg^{0,75}, g/h ou g/24h. Nsahlai et al. (2000) coletaram amostra de urina em três períodos distintos (8h-9h30; 14h-15h30 e 20h-21h30) durante seis dias de coleta e não verificaram influência do horário de coleta sobre as concentrações de creatinina e derivados de purina na urina.

A excreção média de creatinina encontrada por Rennó et al. (2000) em quatro experimentos com novilhos com peso médio de 283 kg foi de 27,36 mg/kg PV. Em outro experimento conduzido por Rennó et al. (2002) em novilhos com peso médio de 278 kg, a excreção de creatinina foi de 27,76. Esses valores são aproximadamente 8% maiores que os encontrados neste experimento, no qual o peso médio dos novilhos foi de 445 kg e a excreção média, de 25,47 mg/kgPV. Contudo, se expressos em mg/kg^{0,75}, os valores obtidos neste experimento foram 3,5% maiores que os obtidos por Rennó et al. (2002), de 113,75 mg/kg^{0,75}. Entretanto, outros autores têm obtido valores de 24,26 mg/kgPV (Valadares et al., 1997b) e de 23,41 (Oliveira et al., 2001), em vacas mestiças Holandês × Zebu, o que provavelmente está associado às variações na proporção de tecidos de animais em crescimento, pois, como discutido, a creatinina resulta do metabolismo protéico do tecido muscular e possivelmente é excretada proporcionalmente à quantidade deste tecido no animal.

Simpfendorfer (1974), citado pelo NRC (2001), sumarizou dados relativos à composição corporal de bovinos do nascimento à maturidade e encontrou que 96 a 99% da variação na composição química estava associada a diferenças de peso de bovinos com tamanhos à maturidade semelhantes. Segundo o NRC (1996), se um animal é alimentado com dieta contendo nível adequado de energia, a

porcentagem de proteína diminui e a de gordura aumenta no corpo vazio à medida que seu peso se aproxima do peso à maturidade. Em animais em crescimento, a porcentagem de tecido muscular varia de acordo com o peso animal e, conseqüentemente, a excreção de creatinina em mg/kg de peso pode ser alterada. Animais adultos possuem menor variação na composição corporal e, portanto, a excreção de creatinina em relação ao peso vivo pode se tornar menos variável.

Rennó (2003) estudou o efeito do grupo genético (Holandês, ½ sangue Holandês-Guzerá, ½ Holandês-Gir e Zebu) sobre a excreção de creatinina, expressa em relação ao peso vivo, em dois experimentos e não detectou diferença significativa entre os grupos. No primeiro experimento, o peso inicial dos animais dos grupos genéticos Holandês, ½ Holandês-Guzerá, ½ Holandês-Gir e Zebu foi de 330, 294, 289 e 198 kg e a média de excreção diária de creatinina, de 26,6; 28,7; 28,7 e 27,0 mg/kgPV, respectivamente. Chizzotti et al. (2004) constataram variações na excreção de creatinina em dois estudos com novilhos e novilhas de grau de sangue predominantemente Holandês. A média encontrada para novilhos com peso médio de 259 kg foi de 27,99 mg/kgPV e, para as novilhas com diferentes pesos, foram de 26,43 e 30,53 mg/kgPV para os pesos médios de 523 e 118 kg, respectivamente, observando-se que as novilhas com 453 kg apresentaram valores de 118,3 mg/kg^{0,75}, próximos aos 117,92 mg/kg^{0,75} obtidos neste trabalho.

A ausência de efeito de número de dias sobre a excreção de creatinina pode reduzir o trabalho com tempos longos de coleta, além de permitir a redução nos custos da pesquisa.

As médias e os coeficientes de variação para as excreções urinárias de alantoína, ácido úrico, derivados de purinas, as purinas absorvidas e as estimativas de síntese de compostos nitrogenados microbianos obtidos com os diferentes níveis de uréia e concentrado na dieta são apresentados na Tabela 6.

Não foi observado efeito (P>0,05) da interação nível de concentrado × nível de uréia sobre nenhuma das variáveis estudadas. As purinas totais, as purinas absorvidas e as estimativas da produção de compostos nitrogenados

Tabela 6 - Médias e coeficientes de variação (CV%) para as excreções urinárias de alantoína (ALA), ácido úrico (AcU), derivados de purinas (DP) e purinas absorvidas (Pabs) e estimativas de síntese de compostos nitrogenados microbianos (Nmic) obtidos nos níveis de uréia e concentrado

Table 6 - Means and coefficients of variation (CV%) for the urinary excretion of allantoin (ALA), uric acid (UAc), purine derivatives (PD), absorbed purines (AbsP) and estimation of microbial nitrogen synthesis (MicN) in steers fed different levels of urea and concentrate

Item	Nível de concentrado (%PV) Level of concentrate (%BW)		Nível de uréia (%) Level of urea		CV (%)	Efeito ^{1,2} Effect		
	0,75	1,25	0	100		C	U	C x U
ALA (mmol/dia) ALA (mmol/day)	177,3	203,0	203,8	176,5	20,6	*	*	ns
Açu (mmol/dia) UAc (mmol/day)	15,0	16,8	16,4	15,3	17,0	*	ns	ns
DP (mmol/dia) PD (mmol/day)	192,3	219,8	220,2	191,8	18,9	*	*	ns
Pabs (mmol/dia) AbsP (mmol/day)	181,2	213,6	214,2	180,6	23,2	*	*	ns
Nmic (g/dia) MicN (g/day)	131,8	155,3	155,7	131,3	23,2	*	*	ns

¹ C = concentrado; U = uréia; C x U = interação concentrado x uréia; ² ns, * não-significativo e significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.
¹ C = concentrate; U = urea; C x U = concentrate x urea interaction; ² ns; * not significant and significant at 5% of probability by F test, respectively.

microbianos foram maiores ($P < 0,05$) no maior nível de concentrado e menores ($P < 0,05$) quando houve a substituição da proteína do farelo de soja pela uréia. Esse resultado pode estar relacionado ao fato de os animais terem apresentado comportamento similar para o consumo de MS (em kg/dia), conforme descrito por Paixão (2005). Desse modo, aqueles que consumiram mais nutrientes apresentaram maior síntese ruminal de microrganismos. De acordo com Van Soest (1994), aumentos na ingestão proporcionam maior escape de microrganismos para o duodeno. Além disso, as dietas contendo uréia/sulfato de amônia apresentaram em média 5,3% dessa mistura na composição dos concentrados. Esse elevado teor de NNP pode ter resultado em deficiência de peptídeos e/ou aminoácidos para o crescimento microbiano.

Rennó et al. (2002) não encontraram efeito da adição de uréia em níveis crescentes na dieta (0; 0,65; 1,3 e 1,95 na MS) de novilhos sobre a excreção de derivados de purinas totais e as estimativas da produção de nitrogênio microbiano, contudo, obtiveram os menores valores numéricos para o maior nível de uréia.

Neste trabalho, a excreção de alantoína refletiu a excreção das purinas totais e foi afetada pelo nível de oferta de concentrado e pelo nível de uréia. A proporção de alantoína em relação às purinas totais foi de aproximadamente 92,2%. Verbic et al. (1990) encontraram proporção de 85% de alantoína em relação aos derivados de purinas, enquanto Leão (2002) e Rennó et al. (2002) registraram, em novilhos, valor médio de 87,9 e 91,7%, respectivamente. Neste trabalho, não foram analisadas as excreções de xantina e hipoxantina, pois estas substâncias não estão presentes em quantidades significativas na urina de bovinos (Chen & Gomes, 1992).

Na Tabela 7 são apresentadas as médias para as excreções urinárias de alantoína, ácido úrico, derivados de purinas totais, purinas absorvidas e as estimativas dos compostos nitrogenados microbianos obtidas nos dias de coleta de urina. As excreções de alantoína e de derivados de purinas não foram afetadas ($P > 0,05$) pelo dia de coleta de urina. Esse resultado foi semelhante ao observado para as purinas microbianas absorvidas e para os compostos nitrogenados microbianos.

A eficiência microbiana foi em média 136,3 g de PBmic/kg de NDT, considerando o teor de NDT da dieta de 64,85% da MS (Paixão, 2005), semelhante ao citado pelo NRC (2001), de 130g PB mic/kg de NDT, e 17,4% maior que o encontrado por Paixão (2005), de 112,55 g de PBmic/kg de NDT em estudo com 16 novilhos com peso inicial médio de 286 kg submetidos aos mesmos tratamentos testados nesta pesquisa. A autora relatou que a eficiência de síntese microbiana não foi afetada pela fonte protéica ou pelos níveis de concentrado. Contudo, o valor encontrado pode ter sido subestimado, pois foi utilizado valor de 24,04 mg/kg PV para estimativa da excreção de creatinina.

Na Tabela 8 constam as médias para as concentrações de uréia no plasma (UP), N uréico no plasma (NUP) e as excreções urinárias de uréia (EUU) e N uréico (NUU) nos dois níveis de uréia e de concentrado.

A concentração de NUP não foi afetada ($P > 0,05$) pela fonte protéica ou pelos níveis de concentrado, porém, Paixão (2005), em estudo com 16 novilhos submetidos a tratamentos semelhantes, observou que esta variável foi afetada pelos níveis de concentrado na dieta. Segundo Broderick (1995), a concentração elevada de uréia plasmática está relacionada à utilização ineficiente da

Tabela 7 - Médias e coeficientes de variação (CV%) para as excreções urinárias de alantóina (ALA), ácido úrico (AcU), derivados de purinas (DP), purinas absorvidas (Pabs) e estimativas de síntese de compostos nitrogenados microbianos (Nmic) nos dias de coleta de urina

Table 7 - Means and coefficients of variation (CV%) for the urinary excretion of allantoin (ALA), uric acid (UAc), purine derivatives (PD), absorbed purines (AbsP) and estimation of microbial nitrogen synthesis (MicN) in different sampling days

Item	Dia de coleta Sampling day						Média Mean	CV (%)
	1	2	3	4	5	6		
ALA ^{1,2} (ALA)	196,1	187,2	190,0	185,5	189,4	192,6	190,2	20,56
AcU ^{1,2} (UAc)	16,2	14,9	15,6	15,2	16,1	17,1	15,9	16,97
DP ^{1,2} (PD)	212,3	202,1	205,7	200,8	205,6	209,8	206,0	18,91
Pabs ^{1,2} (AbsP)	204,8	192,8	197,0	191,2	196,8	201,8	197,4	23,22
Nmic ^{1,3} (MicN)	148,9	140,2	143,2	139,0	143,1	146,7	143,5	23,22

¹ Efeito relativo a dias de coleta não-significativo (P>0,05) pelo teste F; ² mmol/dia; ³ g/dia.

¹ Effect was not significant (P>0.05) by F test. ² mmol/day; ³ g/day.

Tabela 8 - Médias e coeficientes de variação (CV%) para as concentrações de uréia (UP) e N-uréico no plasma (NUP) e para as excreções de uréia na urina (EUU) e N-uréia na urina (NUU) nos níveis de uréia e de concentrado

Table 8 - Means and coefficients of variation (CV%) for the plasma concentration of urea (PU) and urea-N (PUN) and urinary excretion of urea (UEU) and urea-N (UUN) in steers fed different levels of urea and concentrate

Item	Nível de concentrado (%PV) Level of concentrate (%BW)		Nível de uréia (%) Level of urea		CV (%)	Efeito ^{1,2} Effect		
	0,75	1,25	0	100		C	U	C x U
UP (mg/dL)	39,9	33,0	36,0	36,9	27,0	ns	ns	ns
PU (mg/dL)								
NUP (mg/dL)	18,6	15,4	16,8	17,2	27,0	ns	ns	ns
PUN (mg/dL)								
EUU (g/dia)	228,4	200,9	203,4	225,9	12,0	*	ns	ns
UEU (g/day)								
NUU (g/dia)	106,4	93,6	97,8	105,3	12,0	*	ns	ns
UUN (g/day)								
EUU (mg/kgPV)	499,8	436,6	446,3	490,0	11,3	*	ns	ns
UEU (mg/kgBW)								
NUU (mg/kgPV)	232,9	203,4	208,0	228,3	11,3	*	ns	ns
UUN (mg/kgBW)								

¹ C = concentrado; U = uréia; interação concentrado x uréia.

² ns = não-significativo e significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.

¹ C = concentrate; U = urea; concentrate x urea interaction.

² ns, * not significant and significant at 5% of probability by F test, respectively.

proteína da dieta. A concentração plasmática de uréia é positivamente relacionada à ingestão de N (Valadares et al., 1997b) e influenciada pelos teores de PDR e PNDR (Roseler et al., 1993).

Embora a excreção de uréia em relação ao peso vivo tenha sido influenciada (P<0,05) pelo nível de concentrado, os valores apresentaram tendência similar à da concentração de NUP, confirmando a afirmação de Harmeyer & Martens (1980) de que a quantidade de uréia excretada na urina é diretamente proporcional à sua concentração no plasma. Como discutido anteriormente, o nível de oferta de concentrado de 1,25% PV refletiu em maior produção de compostos nitrogenados microbianos, o que pode ter resultado em menores (P<0,05) perdas urinárias de uréia. Quando a uréia foi utilizada como fonte de N, a excreção de uréia (mg/kg PV) aumentou em relação à obtida com o forneci-

mento da dieta com farelo de soja. A concentração de NUP, no entanto, foi menor no maior nível de concentrado. Apesar de não-significativas, essas diferenças podem ser atribuídas ao fato de a maior produção microbiana no maior nível de concentrado (Tabela 7) ter diminuído a absorção de amônia pela parede ruminal e, conseqüentemente, a concentração de NUP.

Rennó (2003), em experimento com novilhos, observou aumento linear na concentração de NUP e excreções médias de uréia de 350,5 mg/kgPV nos níveis 0; 0,65; 1,3 e 1,95 de uréia na MS da dieta (com aproximadamente 12% PB). Por outro lado, Magalhães (2005), utilizando níveis semelhantes de uréia em novilhos mestiços, não encontrou diferença quanto ao NUP e EEUU e obteve médias de 14,92 mg/dL e 458,95 mg/kgPV, respectivamente. Leão (2002) encontrou concentração média de N-uréia no plasma de 19,30 mg/dL

Tabela 9 - Médias e coeficientes de variação (CV%) para as excreções de uréia na urina (EUU) e N-uréia na urina (NUU) nos dias de coleta

Table 9 - Means and coefficients of variation (CV%) for the urinary excretion of urea (UEU) and urea-N (UUN) in different sampling days

Item	Dia de coleta Sampling day						Média Mean	CV (%)
	1	2	3	4	5	6		
EUU ¹ (g/dia) UEU (g/day)	209,2	208,1	213,5	216,6	218,0	222,4	214,6	12,0
NUU ¹ (g/dia) UUN (g/day)	97,5	97,0	99,5	100,9	101,6	103,6	100,0	12,0
EUU ¹ (mg/kgPV) UEU (mg/kgBW)	454,5	452,6	464,2	479,0	474,8	483,9	468,2	11,3
NUU ¹ (mg/kgPV) UUN (mg/kgBW)	211,8	210,9	216,3	223,2	221,2	225,5	218,2	11,3

¹ Efeito relativo a dias de coleta não-significativo (P>0,05) pelo teste F.¹ Effect of sampling days was not significant (P>0.05) by F test.

em novilhos ½ Holandês-Zebu alimentados com dieta com 13% de PB.

Na Tabela 9 são apresentados as médias e o erro-padrão da média para as excreções diárias de uréia e N-uréia nos diferentes dias de coleta. Os dias de coleta não influenciaram as excreções de uréia (P>0,05). Portanto, coletas de 24 horas de duração permitem de modo geral a obtenção de amostras representativas da condição animal para as variáveis estudadas neste experimento.

Conclusões

As estimativas das excreções diárias de creatinina, uréia e derivados de purinas não são influenciadas pela duração do período de coletas de urina.

As excreções urinárias de uréia (mg/kg PV) são reduzidas pelo aumento da oferta de concentrado nas dietas.

A ausência de efeito de número de dias sobre a excreção de creatinina tem grande aplicação prática, pois, além de reduzir o trabalho, permite a diminuição dos custos da pesquisa, dispensando a coleta de urina durante períodos longos. Sugere-se que essas coletas sejam feitas durante 24 horas.

A excreção de creatinina foi em média 25,47 mg/kgPV, 117,92 mg/kg^{0,75} e 1,04 mmol/kg^{0,75} em bovinos com aproximadamente 450 kg de peso vivo.

Literatura Citada

BRODERICK, G.A. **Use of milk urea as an indicator of nitrogen utilization in lactating dairy cow.** Washington: US Dairy Forage Research Center/ Agricultural Research Service, 1995. 122p. (Research Summaries).

CHEN, X.B.; GOMES, M.J. **Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of technical details.**

Aberdeen: Rowett Research Institute/International Feed Research Unit, 1992. 21p. (Occasional Publication).

CHIZZOTTI, M.L. **Avaliação da casca de algodão para novilhos de origem leiteira e determinação da excreção de creatinina e produção de proteína microbiana em novilhas e vacas leiteiras.** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2004. 132p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2004.

CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Excreção de creatinina em novilhos e novilhas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande, 2004 (CD-ROM).

FLEMING, S.A.; HUNT, E.L.; RIVIERE, J.E. et al. Renal clearance and fractional excretion of eletrolytes over four 6-hour periods in cattle. **American Journal of Veterinary Research**, v.52, n.1, p.5-8, 1991.

FUJIHARA, T.; ØRSKOV, E.R.; REEDS, P.J. et al. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agricultural Science**, v.109, n.1, p.7-12, 1987.

HARMEYER, J.; MARTENS, H. Aspects of urea metabolism with reference to the goat. **Journal of Dairy Science**, v.63, p.1707-1728, 1980.

LEÃO, M.I. **Metodologias de coletas de digestas omasal e abomasal em novilhos submetidos a três níveis de ingestão: consumo, digestibilidade e produção microbiana.** Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2002. 57p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, 2002.

MAGALHÃES, K.A.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Produção de proteína microbiana, concentração plasmática de uréia e excreções de uréia em novilhos alimentados com diferentes níveis de uréia ou casca de algodão. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.4, p.1400-1407, 2005.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle.** 7.ed. Washington, D.C.:National Academy, 1996. 242p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle.** 7.ed. Washinton, D.C.: National Academic Press, 2001. 381p.

NSAHLAI, I.V.; OSUJI, P.O.; UMUNNA, N.N. Effect of form and of quality of feed on the concentrations of purine derivatives in urinary spot samples, daily microbial N supply and predictability of intake. **Animal Feed Science and Technology**, v.85, p.223-238, 2000.

- OLIVEIRA, A.S.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Produção de proteína microbiana e estimativa das excreções de derivados de purinas e de uréia em vacas lactantes alimentadas com rações isoproteicas contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não-proteicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1621-1629, 2001.
- ORELLANA BOERO, P.; BALCELLS, J.; MARTÍN-ORÚE, S.M. et al. Excretion of purine derivatives in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. **Livestock Production Science**, v.68, p.243-250, 2001.
- ØRSKOV, E.R.; MACLEOD, N.A. The determination of the minimal nitrogen excretion in steers and dairy cows and its physiological and practical implications. **British Journal Nutrition**, v.47, n.3, p.625-636, 1982.
- PAIXÃO, M.L. **Uréia em dietas para bovinos: desempenho, consumo, digestibilidade, parâmetros ruminais e variação diária na excreção de indicadores**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2005. 72p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2005.
- PEREZ, J.F.; BALCELLS, J.; GUADA, J.A. et al. Determination of rumen microbial-nitrogen production in sheep: a comparison of urinary purine excretion with methods using ¹⁵N and purine bases as markers of microbial-nitrogen entering the duodenal. **British Journal Nutrition**, v.75, p.699-709, 1996.
- RENNÓ, L.N. **Consumo, digestibilidade total e parcial, produção microbiana, parâmetros ruminais e excreções de uréia e creatinina em novilhas alimentadas com dietas contendo quatro níveis de uréia ou dois níveis de proteína**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 252p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2003.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES, R.F.D.; LEÃO, M.I. et al. Estimativa da produção de proteína microbiana pelos derivados de purina na urina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.1223-1234, 2000.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Estimativas da excreção urinária de derivados de purinas e da produção de proteína microbiana em novilhos alimentados com níveis crescentes de uréia na ração. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife. **Anais...** Recife, 2002 (CD-ROM).
- ROSELER, D.K.; FERGUNSON, J.D.; SNIFFEN, C.J. et al. Dietary protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk nonprotein nitrogen in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.1, p.525-534, 1993.
- SILVA, R.M.N.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Uréia para vacas em lactação. 2. Estimativas do volume urinário, da produção microbiana e da excreção de uréia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.6, p.1948-1957, 2001.
- SUSMEL, P.; STEFANON, B.; PLAZZOTTA, E. et al. The effect of energy and protein intake on the excretion of purine derivatives. **Journal of Agricultural Science**, v.123, p.257-266, 1994.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **Departamento de Engenharia Agrícola. Estação Meteorológica**. Viçosa, MG, 2002. n. p.
- VAGNONI, D.B.; BRODERICK, G.A.; CLAYTON, M.K. et al. Excretion of purine derivatives by Holstein cows abomasally infused with incremental amounts of purines. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.8, p.1695-1702, 1997.
- VALADARES, R.F.D.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUEZ, N.M. et al. Metodologia de coleta de urina em vacas utilizando sondas de Folley. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1279-1282, 1997a.
- VALADARES, R.F.D.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUEZ, N.M. et al. 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, 1997b.
- VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. Teores de Proteína em dietas de vacas de leite. SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE GADO DE LEITE, 2., 2001, Lavras. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2001. (CD-ROM).
- VALADARES FILHO, S.C.; MORAES, E.H.B.K.; MAGALHÃES, K.A. et al. Alternativas para otimização da utilização de uréia para bovinos de corte. In: SINCORTE – SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 4., 2004, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2004. p.313-366.
- Van SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. London: Comstock Publishing Associates, 1994. 476p.
- VERBIC, J.; CHEN, X.B.; MACLEOD, N.A. et al. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal of Agricultural Science**, v.114, n.3, p.243-248, 1990.

Recebido: 27/01/06
Aprovado: 14/12/06