



Parâmetros ruminais, balanço de compostos nitrogenados e produção microbiana de vacas leiteiras alimentadas com soja e seus subprodutos¹

Angela Maria de Vasconcelos², Maria Ignez Leão³, Sebastião de Campos Valadares Filho³,
Rilene Ferreira Diniz Valadares⁴, Marcia Dias⁵, Débora Andréa Evangelista Façanha Morais⁶

¹ Projeto parcialmente financiado pelo CNPq.

² Universidade Estadual Vale do Acaraú – UVA. Centro de Ciências Agrárias e Biológicas/Curso de Zootecnia. Avenida da Universidade, 850 – Bairro: Betânia, CEP: 62.040-370. Sobral, CE.

³ Departamento de Zootecnia/UFV.

⁴ Departamento de Medicina Veterinária/UFV.

⁵ Doutoranda em Zootecnia/UFV.

⁶ UFRSA, Mossoró, RN.

RESUMO - Objetivou-se analisar a variação do pH, da amônia ruminal e do balanço de compostos nitrogenados e a síntese de proteína microbiana de 12 vacas da raça Holandesa distribuídas em três quadrados latinos 4 × 4, alimentadas com dietas contendo soja em diferentes formas: farelo de soja (dieta controle), soja crua, soja tostada e farelo de soja + 5% de ureia, utilizando-se silagem de milho como volumoso. A síntese da proteína microbiana foi estimada utilizando-se os derivados de purina na urina e no leite. Amostras de sangue e amostras *spot* de urina foram coletadas aproximadamente quatro horas após a alimentação da manhã. Houve efeito das dietas sobre o volume urinário e a excreção de ureia na urina. O menor volume urinário (18,84 L) foi observado com farelo de soja+ureia. As excreções de ureia na urina foram semelhantes entre a soja crua (532,98 mg/kgPV) e a soja tostada (524,41 mg/kgPV) e diferiram entre o farelo de soja (561,56 mg/kgPV) e o farelo de soja+ureia (575,71 mg/kgPV). A forma de fornecimento da soja não teve efeito no balanço de nitrogênio e nas concentrações do nitrogênio ureico no plasma (NUP), mas teve efeito significativo no nitrogênio ureico no leite (NUL), cuja maior média foi obtida com a soja crua (15,66 mg/dL). As médias de alantóina na urina (416,45 mmol/dia) e no leite (12,78 mmol/dia), dos derivados de purinas totais (468,30 mmol/dia), da síntese de proteína microbiana (287,33 g/dia) e da eficiência da síntese microbiana (133,06), expressa em g de PB/kg de NDT consumido, não diferiram entre as dietas. As dietas testadas não afetaram o balanço de nitrogênio nem a produção microbiana, porém a inclusão de grãos de soja crus aumentou os teores de nitrogênio ureico no leite.

Palavras-chave: grãos de soja, leite, purinas, ureia plasmática

Ruminal parameters, nitrogen compound balance and microbial production in dairy cows fed soybeans and their by-products

ABSTRACT - The objective of this study was to assess the variation in the pH, ruminal ammonia, nitrogen compound balance (BN) and microbial synthesis (Nmic) of 12 Holstein cows distributed in three 4 × 4 Latin squares, fed diets containing soybeans in different forms: only soybean meal (SM - control diet), raw soybeans (RS), toasted soybeans (RST) and soybean meal plus 5% urea (SMU), using corn silage as bulk. The microbial protein synthesis was estimated using the purine derivatives in the urine and the milk. Blood samples and spot urine were collected, approximately four hours after the morning meals. There was effect of the diets on the urine volume (UV) and the urea excretion in the urine (UEU). The smallest urine volume (18.84 L) was observed with soybean meal + urea. Urea excretions in the urine were similar among the diets containing raw soybean (532.98 mg/kgPV) and toasted soybean (524.41 mg/kgPV) and differed between the soybean meal (561.56 mg/kgPV) and soybean meal + urea (575.71 mg/kgPV). The way of supplying soybean did not affect the nitrogen balance or the ureic nitrogen concentrations in the Plasma (NUP), but they had a significant effect on the ureic nitrogen in the milk (NUL) whose greatest mean was obtained with raw soybean (15.66 mg/dL). The means of allantoina in the urine (416.45 mmol/dia), milk (12.78 mmol/dia), total purine derivatives (468.30 mmol/dia), microbial protein synthesis (287.33 g/dia) and the efficiency of the microbial synthesis (133.06), expressed in g of CP/kg of consumed TNT did not differ among the diets. The diets tested did not the nitrogen balance or the microbial production, but the addition of raw soybean grains increased nitrogen levels in the milk.

Key Words: milk, purines, soybean grains, urea plasma

Introdução

Nos ruminantes, grande parte da proteína que chega para a digestão abomasal e intestinal é de origem microbiana, principal fonte de aminoácidos, e sua estimativa pode ser avaliada pelo balanço dos compostos nitrogenados e da síntese de proteína microbiana. O equilíbrio do ambiente ruminal deve se manter em condições adequadas de osmolaridade, pH e potencial redox para o crescimento e metabolismo microbiano, atendendo suas exigências de proteína e energia (Berchielli et al., 2006).

A amônia ruminal é originada da degradação proteica da dieta, da hidrólise de fontes de nitrogênio não-proteico, da ureia reciclada no rúmen e da lise da proteína microbiana. Sua concentração é utilizada como indicador da degradação proteica, da eficiência de utilização do nitrogênio da dieta e do crescimento microbiano (Satter & Slyter, 1974; Leng & Nolan, 1984; Russell et al., 1992).

Entre os suplementos proteicos disponíveis para a alimentação de vacas leiteiras, o farelo de soja é o mais usado, porém, alternativas como os grãos de soja crus e tostados e a inclusão de ureia associada a uma fonte rica de proteína não-degradável no rúmen podem contribuir para melhor relação energia:proteína sem comprometer o desempenho animal.

Existem vários métodos para estimar a síntese microbiana ruminal e o mais usado é a excreção urinária de derivados de purina. As excreções de ureia e nitrogênio na urina têm sido determinadas por uma única amostragem, chamada de amostra *spot* (Oliveira et al., 2001). A amônia é utilizada pelos microrganismos e o excedente absorvido pela parede do rúmen e transportado para o fígado, entrando no ciclo da ureia, que pode ser reciclada ou eliminada (Van Soest, 1994). Elevadas concentrações sanguíneas de ureia no leite são positivamente correlacionadas a ingestão de nitrogênio e

associadas a maior taxa de excreção urinária de ureia. Portanto, a concentração de nitrogênio ureico no plasma e no leite pode ser usada como forma de avaliar o estado nutricional proteico e a eficiência de utilização do nitrogênio, resultando em indicadores do equilíbrio ruminal entre nitrogênio e energia.

Objetivou-se avaliar o uso da soja e seus subprodutos na alimentação de vacas leiteiras sobre o pH e a concentração de nitrogênio amoniacal ruminal, a excreção de ureia na urina, as concentrações de nitrogênio no plasma e no leite, o balanço de compostos nitrogenados e a produção microbiana.

Material e Métodos

A pesquisa foi conduzida na Unidade de Ensino Pesquisa e Extensão em Gado de Leite (UEPE-GL) do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa – MG no período de abril a junho de 2006 utilizando-se 12 vacas da raça Holandesa preto-e-branco, com peso aproximado de 570 kg, mantidas em confinamento. Avaliou-se o efeito da soja processada de diferentes formas sobre a variação do pH e da amônia ruminal, o balanço de compostos nitrogenados e a síntese de proteína microbiana. Os animais foram distribuídos de acordo com as seguintes dietas: farelo de soja; grãos de soja crus; grãos de soja tostados tratado a 145 °C durante 1 minuto com *steeping*, escolhido por fornecer maior quantidade de proteína não-degradada no rúmen e farelo de soja mais 5% de ureia. A silagem de milho foi usada como volumoso em todas as dietas. As dietas foram formuladas para serem isoproteicas, com aproximadamente 16,5% de proteína bruta na matéria seca total. Em todos os concentrados, foram misturados bicarbonato de sódio e óxido e magnésio na proporção 2:1 (Tabela 1).

Tabela 1 - Composição química, em porcentagem de MS, das dietas experimentais e da silagem de milho

Amostra	Dieta				
	Farelo de soja	Soja crua	Soja tostada	Farelo de soja+ureia	Silagem de milho
Matéria seca	56,20	56,80	56,90	56,43	28,41
Matéria orgânica	94,01	93,66	93,99	95,02	94,97
Proteína bruta	16,23	16,76	16,50	16,32	5,99
Nitrogênio insolúvel em detergente ácido	3,77	3,48	3,67	3,05	2,32
Extrato etereo	2,54	6,74	6,22	2,70	2,46
Proteína digestível no rúmen ¹ (%PB)	63,50	65,48	53,37	76,67	-
Proteína não-degradável no rumen ¹	36,50	34,52	46,63	23,33	-
Fibra em detergente neutro	40,47	40,68	41,16	43,79	57,86
FDNcp	34,27	34,25	34,56	38,33	50,48
Carboidratos não-fibrosos	40,74	35,36	37,72	41,24	36,06
Lignina	1,40	3,55	3,08	2,08	2,70

¹ Proteína degradável no rúmen (PDR), proteína não-degradável no rúmen (PNDR), estimadas pela equação do NRC (2001); FDN (fibra em detergente neutro); FDNcp (fibra em detergente neutro corrigida para proteína e cinzas).

O período experimental teve duração de 84 dias. Os primeiros 14 dias foram usados para adaptação das vacas às dietas experimentais e as coletas de dados efetuadas nos 7 dias posteriores. As vacas foram agrupadas de acordo com a produção inicial de leite (30 kg/dia), média de 160 dias de lactação, escore corporal três e meio (Edmonson et al., 1989) e na 4ª ordem de lactação, distribuída em três quadrados latinos simultâneos, cada um com quatro animais, submetidos a quatro dietas em quatro períodos.

As vacas foram alojadas em baias individuais revestidas com piso de borracha, providas de cocho e bebedouros automáticos. A ração foi oferecida à vontade na forma de mistura completa duas vezes ao dia (50%) após as ordenhas da manhã (8 h) e da tarde (16 h), de forma a permitir sobras de 5 a 10% da matéria natural. Diariamente, os alimentos volumosos e concentrados fornecidos a cada animal de acordo com o consumo diário foram pesados e registrados. As sobras foram pesadas e descartadas antes do arraçoamento matutino para fins de ajustes da quantidade a ser oferecida. O volumoso foi amostrado semanalmente e o concentrado a cada nova mistura, armazenados em geladeira a 4 °C e as sobras, diariamente durante o período de coleta. No final de cada período de coleta, foi realizada uma amostra composta das sobras, dos volumosos e do concentrado referente a cada vaca. As análises de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), fibra em detergente ácido (FDA), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), extrato etéreo (EE) e lignina foram feitas segundo técnica descrita por Silva & Queiroz (2002).

Foram realizadas coletas do conteúdo ruminal por meio de sonda esofágica, segundo metodologia de Ortoloni (1981), para determinação do N-NH₃ e do pH ruminal antes da alimentação (0), e 2 e 4 horas após a alimentação matinal, no último período experimental. Aproximadamente 400 mL desse material foram filtrados em gaze e uma alíquota de 40 mL foi retirada para leitura do pH com potenciômetro digital. Em seguida, adicionou-se 1 mL de ácido sulfúrico a 50% às amostras, que, depois, foram congeladas a -5 °C. Para determinação do N-NH₃, as amostras foram descongeladas e centrifugadas a 3.000 rpm por 15 minutos e 2 mL do sobrenadante foram colocados em tubos de proteína, adicionados 5 mL de KOH 2N para análise do nitrogênio pelo método de kjeldahl. Esses dados foram analisados por estatística descritiva relacionando as médias e os erros-padrão. Amostras de sangue e urina foram coletadas aproximadamente 4 horas após o fornecimento da dieta matinal no 17º e 19º dia de cada período para cada vaca.

As amostras de sangue foram coletadas por punção da veia coccígea em tubos contendo heparina sódica devidamente identificados. O sangue foi imediatamente centrifugado para separação do plasma e congelado para posterior análise do teor de ureia plasmática, segundo o método de Berthelot modificado (Bergmeyer, 1985), utilizando-se um *kit* labtest diagnóstica.

Amostras individuais de leite das ordenhas da manhã e da tarde foram obtidas nos 17º e 19º dias após as ordenhas da manhã (às 8 h) e tarde (às 16 h), diretamente do medidor automático. Posteriormente foi feita uma amostra composta proporcional às produções da manhã e da tarde, conforme recomendação de Broderick & Clayton (1997), que foram desproteinizadas com ácido tricloroacético (TCA) a 25% na proporção de 10 mL leite: 5 de TCA para determinação do nitrogênio ureico e alantoína no leite.

Das amostras *spot* de urina retirou-se uma alíquota de 10 mL, que, depois foi diluída em 40 mL de ácido sulfúrico 0,036 N, a fim de reduzir o pH para valores abaixo de 3, evitando perdas de nitrogênio e destruição bacteriana dos derivados de purina e precipitação do ácido úrico. As amostras foram congeladas para posteriores análises de nitrogênio total, alantoína, ácido úrico, ureia e creatinina. A alantoína no leite e na urina e o nitrogênio total foram determinados conforme método calorimétrico descrito por Chen & Gomes (1992) e Silva & Queiroz (2002), respectivamente, enquanto as de ácido úrico, ureia e creatinina foram determinadas com o uso de *kits* comerciais (LABTEST Diagnostica S.A).

A quantificação do volume urinário diário de cada animal foi feita multiplicando-se o respectivo peso vivo pela quantidade de creatinina excretada diariamente e dividindo-se o produto pela concentração de creatinina (mg/L) na amostra *spot*. Adotou-se a média 24,04 (mg/kgPV) obtida dos estudos de Chizzotti et al. (2007) para obtenção da excreção diária total de creatinina.

No cálculo do balanço de compostos nitrogenados (BN), consideraram-se as quantidades de nitrogênio (g/dia) consumidas (N-ingerido) e excretadas nas fezes (N-fezes), na urina (N-urina) e no leite (N-leite) utilizando-se a técnica descrita por Silva & Queiroz (2002) para determinação do nitrogênio total nas fezes e na urina.

A excreção total dos derivados de purina (DP) foi estimada pela soma das quantidades de ácido úrico e alantoína excretadas na urina mais a quantidade de alantoína secretada no leite, expressos em mmol/dia.

Os cálculos das purinas microbianas absorvidas (PA, mmol/dia) foram realizados a partir das excreções dos derivados de purina (Y, mmol/dia), utilizando-se a fórmula $Y = 0,85PA + 0,385PV^{0,75}$, em que 0,85 é a recuperação de

purinas absorvidas como derivados urinários de purinas e $0,385PV^{0,75}$, a excreção endógena de purinas (Verbic et al., 1990).

A síntese de compostos nitrogenados microbianos no rúmen foi determinada a partir das purinas absorvidas (PA, mmol/dia) utilizando-se uma modificação da equação descrita por Chen & Gomes (1992), com substituição da relação N-purina:N total nas bactérias de 0,116 para 0,117, conforme relatado por Rennó et al. (2000): $Nmic = (70PA / 0,83 \times 0,117 \times 1000)$, em que 70 é o conteúdo de nitrogênio de purinas (mgN/mmol) e 0,83 a digestibilidade das purinas microbianas.

Os dados obtidos foram analisados em três quadrados latinos simultâneos, com a comparação das médias pelo teste de Tukey a 5% de significância, utilizando-se o programa SAS (1999).

Resultados e Discussão

Os valores de pH obtidos entre 6,31 e 7,23 (Tabela 2) foram próximos das médias consideradas normais de 5,5 a 7,0 para otimização da taxa de digestão ruminal e da degradação da parede celular da fibra sugeridas por Furlan et al. (2006).

A dieta com soja tostada apresentou a maior média de pH ruminal (7,23). Vários fatores podem ter contribuído, como a mastigação da ingesta, as características do alimento e o estado fisiológico dos animais. O pH ruminal das dietas à base de farelo de soja e farelo de soja+ureia, nos intervalos de amostragem 0, 2 e 4 horas após a alimentação, foram 6,97; 6,53 e 6,31 e de 6,93; 6,74 e 6,60 superiores as médias encontradas por Pina et al. (2006), de 6,43; 6,00 e 5,93 e de 6,47; 6,30 e 6,20, respectivamente, quando avaliaram o efeito de diferentes dietas para vacas leiteiras, e aos reportados por Pereira (2003) com vacas no terço inicial da lactação, em dietas com 15,5% de PB na MS à base de farelo de soja, fubá de milho e silagem de milho, de 6,48; 6,10 e

6,05, respectivamente. O pH ruminal coletado por sonda para a soja crua e soja tostada nos intervalos de tempo após a alimentação foram de 6,94; 6,77 e 6,62 e de 7,23; 6,74 e 6,60, semelhantes aos dados obtidos por Frosi & Muhlbach (2001), de 6,83; 6,83 e 6,81 com soja crua e tostada a 5 e 7 minutos, respectivamente.

As maiores concentrações numéricas de N-NH₃ amoniacal nos intervalos entre 0 e 4 horas foram observadas duas horas após a alimentação para todas as dietas, de 23,51 (farelo de soja); 16,26 (soja crua); 10,33 (soja tostada) e 34,82 (farelo de soja+ureia) mg/dL (Tabela 2). A menor concentração numérica de 5,61 mg/dL de amônia ruminal foi verificada nos animais mantidos com a dieta com farelo de soja+ureia e em jejum e o maior valor (34,82 mg/dL), duas horas após a alimentação nas vacas recebendo a mesma dieta. Mouro et al. (2002) relataram valor de 38,00 mg/dL, quando avaliaram a ureia como fonte de proteína no período de duas horas, e Pina et al. (2006), de 25,75 mg/dL. Na dieta com soja crua, os maiores valores de N-amoniacal foram maiores que os obtidos com a soja tostada, fonte proteica mais resistente à degradação. Valores similares foram encontrados por Cecava et al. (1991), em pesquisa com o fornecimento de soja em substituição ao farelo de glúten de milho e farinha de sangue, Stokes et al. (1991) com fontes proteicas ricas em proteína não-degradável no rúmen, e Frosi & Muhlbach (2001) em estudo sobre a liberação de amônia *in vitro* nos grãos de soja crus e tostados.

O menor volume urinário estimado foi obtido com o fornecimento das dietas com soja tostada e farelo de soja+ureia ($P < 0,05$), de 19,33 e 18,84 L, respectivamente, e a soja tostada não diferiu ($P > 0,05$) das demais (Tabela 3). As dietas com maiores níveis de proteína não-degradável no rúmen (PNDR) (Tabela 1) resultaram em maior volume urinário. De acordo com o NRC (2001), alimentos ricos em proteína frequentemente resultam em maior demanda de água, em virtude do aumento calórico da proteína e da

Tabela 2 - pH e concentração de nitrogênio amoniacal ruminal (N-NH₃) em três tempos após a alimentação em vacas Holandesas alimentadas com soja em diversas formas

Temp (horas)	Dieta ¹			
	Farelo de soja	Soja crua	Soja tostada	Farelo de soja + 5% de ureia
	pH ruminal			
0	6,97 ± 0,12	6,94 ± 0,13	7,23 ± 0,11	6,93 ± 0,44
2	6,53 ± 0,18	6,77 ± 0,12	6,74 ± 0,06	6,74 ± 0,14
4	6,31 ± 0,14	6,62 ± 0,15	6,43 ± 0,13	6,60 ± 0,19
	N-NH ₃ (mg/dL)			
0	9,39 ± 0,02	8,34 ± 0,70	7,57 ± 0,12	5,61 ± 0,33
2	23,51 ± 1,91	16,26 ± 0,15	10,33 ± 0,22	34,82 ± 0,27
4	8,32 ± 0,34	6,68 ± 0,57	5,84 ± 0,20	12,90 ± 0,67

¹ Farelo de soja (FS); soja crua (SC); soja tostada (ST); farelo de soja mais 5% de ureia (FSU).

eliminação de resíduos do metabolismo. Outros fatores, como a composição do alimento, a temperatura ambiente e as demandas produtivas, também podem ter contribuído. Moscardini et al. (1998) atribuíram o aumento do volume urinário ao efeito da proteína total na dieta. Pina et al. (2006), avaliando vacas alimentadas com diferentes fontes proteicas, não observaram diferença significativa no volume urinário, mas, na dieta com farelo de soja e ureia a 5%, também verificaram valor numericamente inferior ao das demais.

As excreções de ureia na urina foram menores ($P < 0,05$), de 532,98 e 524,41 mg/kgPV, nos animais alimentados com soja crua e soja tostada, respectivamente, em relação àquelas obtidas com farelo de soja (controle) e farelo de soja+ureia. Chizzotti et al. (2007) observaram efeito significativo na excreção de ureia na urina para vacas de diferentes níveis de produção e atribuíram esse fato ao maior consumo de PB dos animais mais produtivos. Neste estudo, as menores excreções de uréia na urina (mg/kgPV) da soja crua e soja tostada foram verificadas nos animais com menor consumo de PB, de 3,18 e 3,26 kg/dia, menor produção de leite, de 26,67 e 26,77 kg/dia, respectivamente, e menores porcentagens de carboidratos não-fibrosos (Tabela 1). Valores similares aos encontrados nesta pesquisa foram relatados por Pina et al. (2006), de efeito significativo ($P < 0,05$) de uma dieta com menor nível de carboidratos não-fibrosos em vacas alimentadas com diferentes fontes proteicas.

As dietas não afetaram as concentrações de NUP ($P > 0,05$), cujos valores médios foram de 19,77 mg/dL. Normalmente, médias altas de NUP estão associadas a dietas com elevados níveis de proteína degradável no rúmen, juntamente com a falta de quantidades de matéria orgânica fermentável no rúmen. Todavia, quantidades mais elevadas de PNDR, assim como de PDR, podem gerar a mesma condição, pois excessos de nitrogênio, tanto de origem ruminal como pós-ruminal, são eliminados do organismo pelo mesmo processo de síntese hepática de ureia (Roseler et al., 1993). Os resultados de NUP obtidos

neste estudo com níveis de proteína não-degradável no rúmen, de 23,33 a 46,63%, variaram de 18,50 a 21,33mg/dL, próximos aos de Davidson et al. (2003), de 34 a 46%, e o nitrogênio ureico no plasma, de 21,9 a 14,3 mg/dL. Carvalho (2001) encontrou nitrogênio ureico no plasma de 18,24 a 21,02 mg/dL em dietas com PNDR de 30,09 a 42,90% para vacas leiteiras. Também Rodriguez et al. (1997) observaram valores mais elevados de NUP (16,1 mg/dL) para vacas que receberam dietas ricas em PNDR (41%), quando comparadas aos animais que consumiram dietas com 29% de PNDR. A dieta contendo soja crua apresentou valor de 21,33 mg/dL, superior ao citado como referência, de 2,6 mmol/L a 7,0 mmol/L de ureia no sangue e que correspondem a 7,28 mg/dL a 19,59 mg/dL de nitrogênio ureico (Contreras, 2000). Segundo Oliveira et al. (2001), concentrações de NUP superiores a 19 mg/dL representam o limite para perdas de nitrogênio dietético e de acordo com Buttler et al. citados por Torres et al. (2002) reduzem a fertilidade e a taxa de concepção de vacas leiteiras.

Ao contrário dos valores observados para o NUP, as concentrações de NUL diferiram ($P < 0,05$). As vacas que receberam dieta à base de soja crua apresentaram maior ($P < 0,05$) NUL em relação àquelas alimentadas com farelo de soja, possivelmente devido ao menor nível de PDR da soja crua (Tabela 1). Os valores de NUL, de 14,44 mg/dL e de 14,77 mg/dL, foram semelhantes ($P > 0,05$) entre a soja crua e o farelo de soja+ureia. Por sua vez, as concentrações de NUL nos animais alimentados com a dieta com farelo de soja não diferiram ($P > 0,05$) daqueles que receberam soja tostada e farelo de soja+ureia. Era de se esperar, portanto, que os resultados obtidos para o NUL e NUP tivessem mesmo comportamento. Vários autores relataram valores de NUL menores que de NUP. Davidson et al. (2003) observaram médias de 15,6 a 10,7 e de 21,9 a 14,3 mg/dL de nitrogênio ureico no leite em animais alimentados com dietas contendo diferentes níveis de PNDR (34,0; 40,0 e 46,0%), respectivamente. Carvalho (2001), ao fornecer dietas com diferentes níveis de PNDR de 36,5; 30,9 e 42,9%, relatou para o NUL médias de 20,17; 20,38 e 18,85 mg/dL, respectivamente.

Tabela 3 - Valores médios para o volume urinário estimado, excreções de ureia na urina, concentrações de nitrogênio ureico no plasma e no leite e relação NUL/NUP nas dietas experimentais

Variável	Dieta				Valor -P	CV(%)
	Farelo de soja	Soja crua	Soja tostada	Farelo de soja+ureia		
Volume urinário (L)	20,75a	20,90a	19,83a	18,84b	0,0008	5,49
Excreção ureia na urina (mg/kgPV)	561,56a	532,98b	524,41b	575,71a	0,0004	4,73
N-ureico no plasma (mg/dL)	18,50a	21,33a	19,60a	19,68a	0,1483	15,37
N-ureico no leite (mg/dL)	12,55b	15,66a	14,44ab	14,77ab	0,0176	15,10
NUL:NUP (mg/dL)	0,68a	0,73a	0,73a	0,75a	0,6943	15,03

Médias seguidas por letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Esses resultados estão próximos aos encontrados neste estudo, com PNDR variando de 23,33 a 46,63%. Outras pesquisas citam valores mais elevados de NUL em relação ao NUP (Imaizumi et al., 2002; Pereira, 2003).

As médias de NUL, de 12,55; 15,66; 14,44 e 14,77 mg/dL encontram-se na faixa de 10 a 17 mg/dL determinada pela maioria dos resultados das pesquisas (Jonker et al., 1999; Ferguson, 2001; Machado & Cassoli, 2002). Valores acima dessas amplitudes podem ser indicativos de consumo excessivo de nitrogênio ou proteína degradável no rúmen.

A relação média do NUL:NUP (0,72) reflete a alta correlação entre essas duas variáveis em diversos estudos (Rodriguez et al., 1997; Kauffman e St-Pierre, 2001; Chizzotti et al., 2007). As concentrações de NUL, em todas as dietas, foram inferiores às de NUP (Tabela 3), o que, segundo Kauffman e St-Pierre (2001), pode estar relacionado ao fato de as coletas de sangue e leite não terem sido efetuadas no mesmo momento. Broderick & Cayton (1997) recomendaram a seguinte equação para estimar o NUP a partir do NUL: $NUP = 1,021NUL + 0,399$ ($r^2 = 0,918$). Com base nesta equação, os valores para as dietas seriam de 13,21; 16,38; 15,14 e 15,47 mg/dL, subestimando as médias encontradas.

Embora as diferenças não tenham sido significativas ($P > 0,05$), as dietas à base de soja crua e soja tostada promoveram as menores ingestões de nitrogênio (501,08 e 521,63 g/dia), respectivamente. As quantidades de nitrogênio fecal, urinário e do leite não foram influenciadas ($P > 0,05$) pelas formas de fornecimento da soja e apresentaram valores médios de 147,20; 139,31 e 143,38 g/dia, respectivamente (Tabela 4). Pode-se inferir que as dietas experimentais estavam adequadas quanto aos nutrientes.

Vários trabalhos foram conduzidos para estimar a excreção de nitrogênio na urina a partir dos níveis de nitrogênio no leite (NUL) como forma de monitorar o balanceamento proteico da dieta. Como exemplo, Jonker et al. (1999) desenvolveram a seguinte equação: $N\text{-urina (g/dia)} = 12,54 * NUL \text{ (mg/dL)}$. Com base nesta preposição, os valores das excreções do N-urina seriam de 157,37 (farelo

de soja); 196,37 (soja crua); 181,07 (soja tostada) e 185,21 (farelo de soja+ureia) mg/dL, superiores aos obtidos neste estudo. Chizzotti (2004), por sua vez, propôs os seguintes modelos em que o peso corporal é considerado juntamente com o NUL: $N\text{-urina (g/dia)} = 0,0135 * NUL \text{ (mg/dL)} * PV$ ($r^2 = 0,69$) e $N\text{-urina (g/dia)} = 0,0151 * NUP \text{ (mg/dL)} * PV \text{ kg}$ ($r^2 = 0,69$). Utilizando-se essas equações, as excreções de N-urina seriam de 98,49; 123,27; 113,72 e 116,31 g/dia e de 162,29; 187,80; 172,65 e 172,66 g/dia para o farelo de soja, a soja crua, a soja tostada e o farelo de soja+ureia sub e superestimando, respectivamente, os resultados encontrados.

As formas de fornecimento da soja na dieta não influenciaram ($P > 0,05$) a secreção de nitrogênio no leite. O modelo desenvolvido por Broderick & Clayton (1997) correlaciona a eficiência de utilização do nitrogênio aos teores de NUL: $\text{eficiência de N (N leite/NT)} = -0,004NUL \text{ (mg/dL)} + 0,309$ ($r^2 = 0,626$). Considerando a média geral do NUL de 14,40 mg/dL obtida com as dietas, o valor médio estimado de eficiência da utilização do nitrogênio foi de 0,5241 N-leite/N-total.

O balanço de nitrogênio, expresso em g/dia, não foi influenciado ($P > 0,05$) pelas dietas e apresentou médias entre 87,61 a 99,87 g/dia. O menor valor numérico ($P > 0,05$), de 87,61 g/dia, foi obtido com o fornecimento da dieta com farelo de soja, o que pode ser atribuído aos maiores valores de excreção de N-fecal e no leite. O balanço positivo de nitrogênio indica que houve retenção de proteína no organismo animal, proporcionando condições para que não ocorresse perda de peso nos animais, indicando provavelmente que as exigências de proteína nas dietas foram satisfeitas.

Não houve efeito ($P > 0,05$) das dietas sobre o balanço de nitrogênio expresso em porcentagem do N-ingerido ou retido. Com a dieta à base de soja tostada, verificaram-se as menores perdas. Do total N-ingerido, foram excretados: 27,83% de N-fecal, 26,03% de N-urina e 26,98% como N-leite, o que indica maior eficiência de utilização do

Tabela 4 - Consumo de nitrogênio, excreção de nitrogênio nas fezes, na urina e no leite e balanço de nitrogênio nas dietas experimentais e seus respectivos coeficientes de variação (CV%)

Variável	Dieta ¹				Média	Valor-P	CV (%)
	Farelo de soja	Soja crua	Soja tostada	Farelo de soja+ureia			
N-ingerido (g/dia)	535,47	501,08	521,63	533,48	522,92	0,0903	6,58
N-fecal (g/dia)	155,78	137,45	145,20	150,37	147,20	0,1041	11,92
N-urina (g/dia)	140,83	133,04	135,82	147,55	139,31	0,6078	15,06
N-leite (g/dia)	151,24	138,14	140,74	143,38	143,38	0,2180	10,72
Balanço de nitrogênio (g/dia)	87,61	90,02	99,87	92,19	93,21	0,8383	36,95
Balanço de nitrogênio (%Ningerido)	16,31	17,30	18,53	17,11	17,47	0,8510	35,49
Balanço de nitrogênio (%N-retido)	4,24	4,47	4,72	4,41	4,51	0,8848	33,16

nitrogênio. Somente a excreção do ácido úrico foi menor ($P < 0,05$) para as dietas contendo grãos de soja cru e tostados (Tabela 5).

O valor médio das excreções de alantoína na urina verificadas neste estudo, de 416,15 mmol/dia (16,5% de PB na MS), foi superior ao valor máximo estimado para amostra *spot* de urina de 258,1 mmol/dia, e maiores que os reportados por Pina et al. (2006), de 353,82 mmol/dia (15,5% de PB na MS), e Souza et al. (2006), de 285,7 a 310,8 mmol/dia (14% de PB na MS), utilizando o método de coleta *spot* de urina. Valores próximos aos encontrados nesta pesquisa foram relatados por Valadares et al. (1999), que encontraram médias de 369 a 535 mmol/dia para vacas com produção de leite média de 40 kg alimentadas com diferentes níveis de concentrado e silagem de alfafa. A relação alantoína excretada na urina e total de derivados de purinas variou de 88,75 a 89,16% e foi superior aos resultados obtidos por Oliveira et al. (2001) de 85,4 e 87,8%, Souza et al. (2006), de 81,7 a 83%, e Oliveira et al. (2007), de 81 a 82,7%.

A secreção média de alantoína no leite, de 12,78 mmol/dia, também não foi influenciada pelas dietas ($P > 0,05$), provavelmente pelo fato de a produção de leite, de 29,14; 26,67; 26,77 e 27,52 kg/dia, ter sido praticamente semelhante entre os animais desta pesquisa e está de acordo com os encontrados por Gonda & Linderberg (1997). O valor médio encontrado foi similar aos relatados por Oliveira et al. (2001), de 12,51 mmol/dia, e inferior ao citado por Oliveira et al. (2007), de 28,5 mmol/dia. A relação entre a secreção de alantoína no leite e a excreção total de derivados de purina variou de 2,52 a 2,99% e foi inferior às médias encontradas por Oliveira et al. (2001), de 3,37 a 4,49% com rações isoproteicas e diferentes níveis de compostos nitrogenados não-proteicos e próxima à relatada por Pina et al. (2006), de 2,64 a 3,23% para dietas com diferentes fontes proteicas.

As menores médias de ácido úrico na urina, de 36,85 e 37,02 mmol/dia, foram encontradas nas vacas alimentadas com soja crua e soja tostada em comparação ao farelo de

soja e ao farelo de soja+ureia. Segundo Johnson et al. (1998), a relação ácido úrico e derivados de purina na urina pode variar com a dieta e o estado fisiológico do animal. A média nesta pesquisa usando coleta *spot* de urina de 39,06 mmol/dia está na faixa descrita por Valadares et al. (1999), de 35,5 a 52,4 mmol/dia, obtida por coleta total de urina e de 24,6 a 52,6 mmol/dia, com amostra *spot* de urina. A excreção do ácido úrico representou 8,4; 7,9; 8,2 e 8,7% das dietas com farelo de soja, soja crua, soja tostada e farelo de soja+ureia, respectivamente. Valores próximos aos verificados neste estudo foram descritos por Silva et al. (2001), que registraram média de 10,8%, Oliveira et al. (2001), de 10,52%, Souza et al. (2006), de 11,8%.

As excreções das purinas totais com média de 468,30 mmol/dia não foram influenciadas ($P > 0,05$) pelas dietas. Outros valores são citados na literatura: Oliveira (2001), de 300,49 mmol/dia, com rações isoproteicas; Melo et al. (2006), de 448 mmol/dia com palma e caroço de algodão; e Pina et al. (2006), de 397,38 mmol/dia, com o fornecimento de dietas de diferentes fontes proteicas. Essa amplitude de variação nos resultados encontrados por diversos autores, segundo Oliveira (2001), pode estar relacionada a fatores como balanceamento das dietas, produção de leite dos animais e a adição de fontes de nitrogênio não-proteico nas dietas.

As purinas absorvidas (mmol/dia) e a produção de Nmicg/dia também não diferiram ($P > 0,05$). O efeito da forma de fornecimento da soja não influenciou ($P > 0,05$) a eficiência microbiana (PB/kgNDT). O valor médio da eficiência microbiana, de 132,89 gPB/kgNDT, foi próximo ao sugerido pelo NRC (2001), de 130,89 gPB/kgNDT (Tabela 5). De acordo com revisão feita por Santos et al. (1998), a proteína microbiana é a melhor fonte de aminoácidos disponíveis para síntese e produção de leite e o farelo de soja é uma das melhores fontes, pois possui bom perfil de aminoácidos, porém esses autores não fizeram referência sobre a soja tostada. Chizzotti et al. (2007)

Tabela 5 - Médias diárias para as excreções de alantoína na urina e no leite, ácido úrico na urina, purinas totais, purinas absorvidas, nitrogênio microbiano (Nmic) e eficiência microbiana obtidas para as dietas experimentais e seus respectivos coeficientes de variação

Variável	Dieta ¹				Média	Valor-P	CV (%)
	Farelo de soja	Soja crua	Soja tostada	Farelo de soja+ureia			
Alantoína na urina (mmol/dia)	434,78a	412,04a	398,52a	420,48a	416,45	0,4395	13,00
Alantoína no leite (mmol/dia)	12,47a	13,24a	13,44a	11,98a	12,78	0,0754	11,16
Ácido úrico na urina (mmol/dia)	41,15a	36,85b	37,02b	41,21a	39,06	0,0004	6,79
Purinas totais (mmol/dia)	488,40a	462,13a	448,99a	473,67a	468,30	0,3696	11,76
Purinas absorvidas (mmol/dia)	415,70a	393,37a	382,19a	403,18a	398,61	0,3696	11,74
N microbiano (g/dia)	299,65a	283,55a	275,50a	290,62a	287,33	0,3697	11,74
Eficiência microbiana (PB/kgNDT)	132,97a	135,28a	135,47a	128,54a	133,06	0,6176	10,74

Médias seguidas por letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

encontraram diferença significativa na produção de N-microbiano e na síntese de PB microbiana com animais de níveis de produção diferentes e atribuiu essa diferença ao consumo mais elevado pelos animais mais produtivos, fato que não ocorreu neste experimento, uma vez que o consumo de matéria seca (19,71; 18,99; 19,06; 19,63 kg/dia) e as produções de leite (29,14; 26,67; 26,77; 27,52 kg/dia) foram semelhantes entre as dietas.

Conclusões

A utilização de soja crua, soja tostada e farelo de soja em associação a ureia pode ser alternativas na alimentação de vacas em lactação, pois não altera a produção microbiana, porém a adição de grãos de soja crus aumenta o teor de nitrogênio ureico no leite.

Referências

- BERGMEYER, H.U. **Methods of enzymatic analysis**. Florida: VHC, 1985. 453p.
- BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. 583p.
- 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, p.2964-2971, 1997.
- CARVALHO, N.M. **Utilização do grão tostado de soja (Glycine max.(L)Merril) na alimentação de vacas em lactação**. 2001. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Agronomia/ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- CECAVA, M.J. Composition of ruminal bacteria harvested from steers as influenced by dietary energy level, feeding frequency, and isolation techniques. **Journal of Dairy Science**, v.73, n.9, p.2480-2488, 1991.
- 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. Bucksburn, Aberdeen: Research Institute, 1992. 21p. (Occasional publication).
- CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Consumo, digestibilidade e excreção de uréia e derivados de purinas em vacas de diferentes níveis de produção de leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.1, p.138-146, 2007.
- CONTRERAS, P.A. Indicadores do metabolismo protéico utilizados nos perfis metabólicos de rebanhos. In: GONZÁLES, F.H.D. (Ed.) **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: UFRGS, 2000. p.23-30.
- DAVIDSON, S.; HOPKINS, B.A.; DIAZ, D.E. et al. Effects of amounts and degradability of dietary protein on lactation, nitrogen utilization, and excretion in early lactation holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.5, p.168-1689, 2003.
- EDMONSON, A.J.; LEAN, I.J.; WEAVER, L.D. et al. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal Dairy Science**, v.72, n.1, p.68-78, 1989.
- FERGUSON, J.D. [2001]. **Milk urea nitrogen**. Disponível em: <http://cahpwww.vet.upenn.edu/mun/mun_info.html>. Acesso: 22/6/2007.
- FROSI, R.A.M.; MUHLBACH, P.R.F. Efeitos de tratamentos térmicos em grãos de soja na liberação de amônia *in vitro* da fração não degradada no rúmen. **Arquivos da Faculdade de Veterinária**, n.29, v.2, p.93-99, 2001.
- FURLAN, R.L.; MACARI, M.; FARIA FILHO, D.E. Anatomia e fisiologia do trato gastrointestinal. In: BERCHIELLI, T.T. (Ed.) **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p.583.
- 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, p.364-373, 1997.
- IMAIZUMI, H.; SANTOS, F.A.P.; PIRES, A.V. et al. Avaliação de diferentes fontes e teores de proteína na dieta sobre desempenho, fermentação ruminal e parâmetros sanguíneos de vacas da raça Holandesa em final de lactação. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.24, n.4, p.1031-1037, 2002.
- JOHNSON, L.M.; HARRISON, J.H.; RILEY, R.E. Estimation of the flow of microbial nitrogen to the duodenum using urinary uric acid allantoin. **Journal of Animal Science**, v.81, n.9, p.2408-2420, 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 Animal Science**, v.82, n.6, p.1261-1273, 1999.
- KAUFFMAN, A.J.; ST-PIERRE, N.R. The relationship of milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion in Holstein and Jersey cows. **Journal of Dairy Science**, v.84, n.10, p.2284-2294, 2001.
- LENG, R.A.; NOLAN, J.V. Nitrogen-metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.67, n.5, p.1072-1089, 1984.
- MACHADO, P.F.; CASSOLI, L.D. In: SINLEITE – SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE LEITE, 2002, Lavras. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2002. p.161-179.
- MELO, A.A.S.; FERREIRA, M.A.; VÉRAS, A.S.C. et al. Desempenho leiteiro de vacas alimentadas com caroço de algodão em dieta à base de palma forrageira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.7, p.1165-1171, 2006.
- MOSCARDINI, S.; WRIGHT, T.C.; LUIMES, P.H. et al. Effects of rumen nitrogen estimated from urinary excretion of purine derivatives in calves after nitrogen to the duodenum using urinary uric acid or allantoin. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.9, p.2421-2429, 1998.
- MOURO, G.F.; BRANCO, A.F.; MACEDO, F.A.F. et al. Substituição do milho pela farinha de mandioca de varredura em dietas de cabras em lactação: produção e composição do leite e digestibilidade dos nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.1, p.475-483, 2002 (supl.).
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 2001. 381p.
- 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 ureia 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.
- OLIVEIRA, V.S.; FERREIRA, M.A.; GUIM, A. et al. Substituição do milho e do feno de capim-tifton por palma forrageira. Produção de proteína microbiana e excreção de ureia e de derivados de purinas em vacas lactantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.936-944, 2007.
- ORTOLONI, E.L. Considerações técnicas sobre o uso da sonda esofágica na colheita do suco de rúmen de bovinos para mensuração do pH. **Arquivo da Escola de Veterinária da UFMG**, v.33, n.2, p.269-275, 1981.
- PEREIRA, M.L.A. **Proteína nas dietas de vacas nos terços inicial e médio da lactação**. 2003. 105f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- PINA, D.S.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Síntese de proteína microbiana concentrações de ureia em vacas alimentadas com diferentes fontes de proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.1551-1559, 2006.

- RENNÓ, L.N.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Estimativa da produção de proteína microbiana pelos derivados de purinas na urina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.24, n.4, p.1223-1234, 2000.
- RODRIGUEZ, L.A.; STALLINGS, C.C.; HERBEIN, J.H. et al. Effect of degradability of dietary protein and fat on ruminal blood and milk components of Jersey and Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.2, p.353-363, 1997.
- ROSELER, D.K.; FERGUSON, 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, p.525-534, 1993.
- RUSSEL, J.B.; O'CONNOR, J.D.; FOX, D.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. I. Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.2551-3561, 1992.
- SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial production in vitro. **British Journal Nutrition**, v.32, p.199-208, 1974.
- SANTOS, F.A.P.; SANTOS, J.E.P.; THEURER, C.B. et al. Effects of rumen undegradable protein on dairy cow performance: a 12 year literature review. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.3182-3213, 1998.
- STOKES, S.R.; HOOVER, W.H.; MILLER, T.K. et al. Impact of carbohydrate and protein levels on bacterial metabolism in continuous culture. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.860-870, 1991.
- SILVA, R.M.N.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Ureia para vacas em lactação. 2. Estimativas do volume urinário, da produção microbiana e da excreção de ureia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.6, p.1948-1957, 2001.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos** (métodos químicos e biológicos). 3.ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa. 2002.
- SOUZA, A.L.; GARCIA, R.; VALADARES, R.F.D. Casca de café em dietas para vacas em lactação: balanço de compostos nitrogenados e síntese de proteína microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1860-1865, 2006.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. **SAS user's guide: statistics**, versão 5. Cary: SAS Institute, 1999. p.1028.
- TORRES, C.A.A.; OLIVEIRA, M.M.N.F.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Ureia para vacas leiteiras no pós-parto: consumo, produção de leite, teor plasmático de ureia e pH uterino. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. 39., 2002, Recife. **Anais...** Recife: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2002. (CD-ROM).
- VALADARES, R.F.D.; BRODERICK, G.A.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Effect of replacing alfalfa with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Animal Science**, v.82, n.12, p.2686-2696, 1999.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Comstock, 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 Agriculture Science**, v.114, n.3, p.243-248, 1990.