

VERÔNICA SCHINAIDER DO AMARAL PEREIRA

**INFLUÊNCIA DO PESO CORPORAL E DAS CARACTERÍSTICAS DE  
CARÇA SOBRE A EXCREÇÃO DE CREATININA E UTILIZAÇÃO DE  
COLETA *SPOT* DE URINA PARA ESTIMAR A EXCREÇÃO DE DERIVADOS  
DE PURINAS E DE COMPOSTOS NITROGENADOS EM NOVILHAS  
NELORE**

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

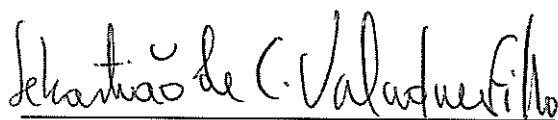
2009

VERÔNICA SCHINAIDER DO AMARAL PEREIRA

**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 PURINAS E DE  
COMPOSTOS NITROGENADOS EM NOVILHAS NELORE**

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*.

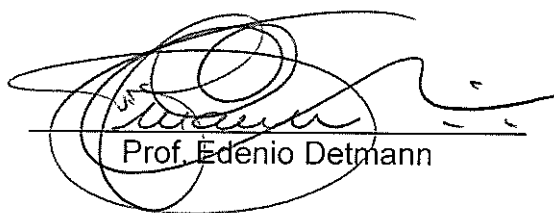
APROVADA: 19 de junho de 2009.



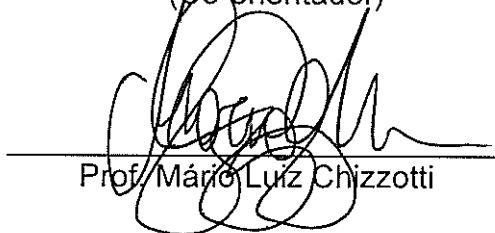
Prof. Sebastião C. Valadares Filho  
(Co-orientadora)



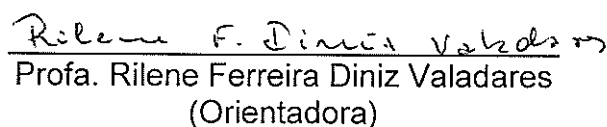
Prof. Pedro Veiga R. Paulino  
(Co-orientador)



Prof. Edénio Detmann



Prof. Mário Luiz Chizzotti



Prof. Rílene Ferreira Diniz Valadares  
(Orientadora)

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por todo caminho percorrido, toda vitória alcançada e todos os obstáculos superados.

A meus pais, pelo apoio, pela compreensão, pela confiança e por tornarem possível mais essa etapa da minha vida.

A meus irmãos, a minha avó e a todos meus familiares, pelo carinho e pela preocupação.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Medicina Veterinária, pela oportunidade de realização do curso.

Ao Departamento de Zootecnia, pela infra-estrutura oferecida para a condução do experimento.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro para realização desse projeto e pela concessão da bolsa de estudos.

À professora Rilene Ferreira Diniz Valadares, pelo carinho, pela oportunidade, orientação, atenção, paciência e vontade em realizar o melhor trabalho possível.

Ao professor Sebastião de Campos Valadares Filho, pelos ensinamentos e pela grande contribuição na elaboração e condução dessa pesquisa.

Aos professores Edenio Detmann, Mário Luiz Chizzotti e Pedro Veiga Paulino, pelas valiosas sugestões e considerações durante o trabalho.

A todos os funcionários do DZO, pela disposição com que sempre me ajudaram, em especial, José Geraldo, Marcelo Cardoso e Natanael, na parte de campo; Vanor, Antônio e Graça, no abate dos animais; Monteiro, Valdir, Mário, Wellington e Plínio, nas análises laboratoriais.

Aos funcionários do DVT, principalmente a Rose, pela paciência e pela ajuda prestada sempre com carinho e eficiência.

Aos professores do DVT e DZO, que contribuíram para a minha formação acadêmica, pelo conhecimento transferido, pelo auxílio e incentivo. Em especial, ao Cláudio José Borela Espescht (DZO) e ao José Dantas Ribeiro Filho (DVT).

Aos professores Edenio Detmann, José Augusto Gomes Azevedo e Douglas dos Santos Pina e à Fabiana Lana de Araújo, pelas infinitas análises estatísticas.

Aos orientados do professor Sebastião, pelo grande auxílio nas coletas, no abate dos animais e nas análises laboratoriais.

A minha querida equipe, pela amizade, dedicação, eficiência e indispensável ajuda na fase experimental, Laura, André, Luiz Fernando, Pedro, Fernando, João Paulo, Priscila, Leandro, Natália, Isabela (Vet), Carlos Eduardo (Vet), Márcio (Marcinho) e João Paulo (Little).

Aos colegas e amigos pós-graduandos e graduandos da UFV, pela boa convivência ao longo do mestrado, pelas amizades construídas, pela ajuda nas disciplinas, pelas dúvidas tiradas nos corredores do DZO, pela solidariedade nas coletas, no abate dos animais e nas análises laboratoriais e, também, pelos momentos de descontração.

À Fabiana Lana, pelos conselhos, pelo apoio, pela imensurável ajuda nos mais diversos momentos, sempre paciente e disposta a atender meus pedidos de socorro.

Ao João Paulo (Pequetito), pelo agradável convívio durante a realização dessa pesquisa, pelo carinho, pelo companheirismo, por me ouvir e me aconselhar, pela imprescindível colaboração nesse trabalho e, pelo grande suporte técnico.

Ao Gustavo, pela presença numa fase de grandes dificuldades e por ter sido fundamental na conclusão desse trabalho.

A meus amigos de TR e da VET 2002, pela eterna amizade e, que mesmo distantes me apoiaram e me deram força para superar meus momentos de desespero.

A todas as gerações das meninas do 101 (incluindo a Edu) pela amizade, pelo companheirismo, pela família que sempre foi, em especial as meninas que participaram com as papeladas, com os lanches, com as digitações e, sempre me ajudaram quando necessário.

Enfim, a todas as pessoas que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização desse trabalho. E aos animais que foram abatidos para a realização dessa pesquisa.

**MUITO OBRIGADA!!!**

## **BIOGRAFIA**

VERÔNICA SCHINAIDER DO AMARAL PEREIRA, filha de Eldo da Silva Pereira e Mariléa Schinaider do Amaral Pereira, nasceu na cidade de Três Rios, estado do Rio de Janeiro, em 07 de abril de 1983.

Em 2002, iniciou o curso de graduação em Medicina Veterinária, na Universidade Federal de Viçosa, colando grau em março de 2007.

Em março de 2007, 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 19 de junho de 2009.

## CONTEÚDO

RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	viii
INTRODUÇÃO.....	1
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	7
Influência do Peso Corporal e das Características de Carcaça sobre a Excreção de Creatinina e Utilização de Coleta <i>Spot</i> de Urina para Estimar a Excreção de Derivados de Purinas e de Compostos Nitrogenados em Novilhas Nelore .....	10
RESUMO.....	10
INTRODUÇÃO.....	12
MATERIAL E MÉTODOS.....	13
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
CONCLUSÕES.....	43
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	44

## RESUMO

PEREIRA, Verônica Schinaider do Amaral, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2009. **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 Purinas e de Compostos Nitrogenados em Novilhas Nelore.** Orientadora: Rilene Ferreira Diniz Valadares. Co-Orientadores: Sebastião de Campos Valadares Filho e Pedro Veiga Rodrigues Paulino.

Objetivou-se avaliar a relação entre o peso corporal, a quantidade de músculo na carcaça, a área de olho de lombo e a espessura de gordura subcutânea com a excreção diária de creatinina em novilhas Nelore de diferentes pesos. Avaliaram-se também as excreções totais de creatinina a intervalos de 4 e 24 horas e as relações de derivados de purina (DP), uréia (U) e compostos nitrogenados totais (NT) com a creatinina (C), obtidas de coletas *spot* de urina a intervalos de 2 horas. Utilizaram-se quinze novilhas, sendo agrupadas em função do peso corporal em três grupos, sendo um grupo com quatro novilhas com peso médio de 127 kg ± 24,2 (baixo), três de 221 kg ± 22,3 (médio) e oito de 434 kg ± 29,2 (alto). Os animais do grupo de maior peso corporal (alto) foram distribuídos aleatoriamente em dois subgrupos, cada um com quatro animais, sendo que a um deles (alto restrito) a dieta foi fornecida ao nível próximo da manutenção (1,3% do peso corporal) e ao outro grupo (alto voluntário) a dieta foi fornecida *ad libitum*. Para o grupo baixo e médio, a mesma dieta, constituída de 60% de volumoso (silagem de milho), 30% de concentrado (mistura à base de casca de soja, milho moído, farelo de soja, uréia/sulfato de amônia, cloreto de sódio e minerais) e 10% de caroço de algodão, foi fornecida *ad libitum*. O período experimental teve duração de nove dias, após 30 dias de adaptação. As coletas de urina foram realizadas utilizando-se sondas de Folley nº 22 ou 26, conforme o peso da novilha. Considerando o período de coleta de 24 horas, a excreção diária de creatinina (C), expressa em g, mg/kg de peso corporal (PC), mg/kg de peso de corpo vazio (PCVZ) e mmol/kg de peso metabólico (PC<sup>0,75</sup>) foi influenciada pelo peso corporal e pela quantidade de músculo (MUS) na carcaça (P<0,05), conforme as seguintes equações de regressão: C (g) = 0,397530 + 0,0441496 PC – 0,0596162 MUS; C (mg/kg PC) = 28,0059 + 0,041690 PC - 0,144537 MUS; C (mg/kg PCVZ) = 30,3663 + 0,0614500 PC – 0,205820 MUS e C (mmol/kg

$PC^{0,75}) = 0,735514 + 0,00253957 PC - 0,00565242 MUS$ . Para estimar a excreção de creatinina, o peso corporal foi o principal determinante, sendo que a utilização de outras variáveis, músculo, área de olho de lombo e espessura de gordura subcutânea não foi suficiente para melhorar os resultados. As excreções médias diárias U, NT e DP apenas foram afetadas pelo peso corporal. Nenhuma das excreções foi influenciada pela área de olho de lombo e espessura de gordura subcutânea. A excreção diária de creatinina encontrada nesse estudo foi de 26,35 mg/kg PC ou 0,95 mmol/kg PC<sup>0,75</sup>. Quando a coleta foi feita a intervalos de 4 horas, a excreção média diária de creatinina encontrada foi de 0,91 mmol/kg PC<sup>0,75</sup>. Quando expressa em g e mmol/kg PC<sup>0,75</sup> houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os grupos, sendo maior a excreção de creatinina para os animais de maior peso corporal; quando expressa em mg/kg PC não foi influenciada pelo peso corporal ( $P > 0,05$ ). Não houve efeito ( $P > 0,05$ ) de períodos de coleta (00h00-04h00, 04h00-08h00, 08h00-12h00, 12h00-16h00, 16h00-20h00, 20h00-00h00) sobre a excreção de creatinina expressa em qualquer unidade. A partir da coleta *spot* de urina a intervalos de 2 horas foi observado que a relação DP:C não variou durante o dia ( $P > 0,05$ ), permitindo o cálculo da excreção de DP (mmol/dia) ser efetivado com coletas obtidas em qualquer horário do dia. Houve efeito ( $P < 0,05$ ) dos períodos de coleta *spot* de urina sobre as relações U:C e NT:C, que foram avaliadas pela série de Fourier, obtendo-se dois pontos diários próximos à média de 7,77 para a relação U:C e 6,42 para a relação NT:C. Os dois pontos ficaram bem próximos aos horários das alimentações (08h00 e 16h00). Conclui-se que a ausência do efeito do tempo de coleta sobre a relação DP:C indica que pode-se usar a amostra *spot* obtida em qualquer horário para determinar a excreção de DP, não havendo necessidade de coleta total de urina. Para estimar as excreções de compostos nitrogenados, recomendam-se duas coletas *spot*, imediatamente após o fornecimento das dietas.



## ABSTRACT

PEREIRA, Verônica Schinaider do Amaral, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, June, 2009. **The Influence of the Body Weight and the Characteristics of the Carcass about the Creatinine Excretion and the Use of *Spot* Sample of Urine to Estimate the Excretion of Purine Derivatives and the Nitrogenous Compounds in Nelore Heifers.** Adviser: Rilene Ferreira Diniz Valadares. Co-Advisers: Sebastião de Campos Valadares Filho and Pedro Veiga Rodrigues Paulino.

This study aimed to evaluate the relation between body weight, the amount of muscle in the carcass, the rib eye area and subcutaneous fat thickness with the daily excretion of creatinine in Nelore heifers of different weights. We also assessed the total creatinine excretion at intervals of 4 and 24 hours and the relation of purine derivatives (PD), urea (U) and nitrogenous compounds (NC) to creatinine (C), obtained from *spot* samples of urine at intervals of 2 hours. Fifteen heifers were used, grouped according to body weight in three groups, one group with four heifers with the average weight  $127 \text{ kg} \pm 24,2$  (low), three of  $221 \text{ kg} \pm 22,3$  (medium) and eight of  $434 \text{ kg} \pm 29,2$  (high). The animals from the higher body weight group (high) were randomly distributed into two subgroups, each one with four animals, and one of them (restricted high) the diet was provided near to the maintenance level (1,3% of body weight) and to the other group (voluntary high) the diet was provided *ad libitum*. For the low and medium group, the same diet, composed of 60% of roughage (corn silage), 30% concentrate (a mixture based on soybean hulls, ground corn, soybean meal, urea/ammonium sulfate, chloride sodium and minerals) and 10% of cotton seed, was provided *ad libitum*. The experimental period lasted nine days, after 30 days of adaptation. The collections of urine were performed, using number 22 or 26 Folley catheters, depending on the weight of the heifer. Considering the period of collection of 24 hours, the daily creatinine excretion expressed in g, mg/kg BW, mg/kg of empty body weight (EBW) and mmol/kg  $\text{BW}^{0,75}$  was influenced by body weight and the amount of muscle (MUS) in the carcass ( $P < 0,05$ ), according to the following regression equations:  $C \text{ (g)} = 0,397530 + 0,0441496 \text{ BW} - 0,0596162 \text{ MUS}$ ;  $C \text{ (mg/kg BW)} = 28,0059 + 0,041690 \text{ BW} - 0,144537 \text{ MUS}$ ;  $C \text{ (mg/kg EBW)} = 30,3663 + 0,0614500 \text{ BW} - 0,205820 \text{ MUS}$  and  $C \text{ (mmol/kg BW}^{0,75}) = 0,735514 + 0,00253957 \text{ BW} - 0,00565242 \text{ MUS}$ . To estimate the creatinine excretion, body weight was the main determinant, and the use of other

variables, muscle, and rib eye area and subcutaneous fat thickness was not sufficient to improve the results. The average daily excretion U, CN and PD were just affected by body weight. None of the excretion was influenced by the rib eye area and subcutaneous fat thickness. The daily creatinine excretion found in this study was 26,35 mg/kg BW. or 0,95 mmol/kg BW<sup>0,75</sup>. When the collection was done at intervals of 4 hours, the average daily creatinine excretion found was 0,91 mmol/kg BW<sup>0,75</sup>. When expressed in g and mmol/kg BW<sup>0,75</sup> there was a significant difference (P <0.05) among groups, by being higher the creatinine excretion for those animals of greater body weight, when expressed in mg/kg BW was not influenced by body weight (P > 0.05). There was no effect (P > 0.05) of the collection periods (00h00-04h00, 04h00-08h00, 08h00-12h00, 12h00-16h00, 16h00-20h00, 20h00-00h00 hours) in the creatinine excretion expressed in any unit. From the collection of *spot* urine at intervals of 2 hours was observed the relationship PD:C has not varied during the day (P > 0.05), allowing the calculation of the excretion of PD (mmol/day) to be done with obtained sample at any time of the day. There was effect (P <0,05) of the periods of the urine *spot* sample over the relations U:C and NC:C, which were analyzed by Fourier serie, obtaining two points daily close to the average of 7,77 to the relation of U:C and 6,42 to the relation NC:C. The two points got very close to food time (08h00 and 16h00). To estimate the nitrogenous compounds excretions, recommends two *spot* collections, right after the food is given. It is concluded that the lack of time effect of collection over the relationship of PD:C indicates that one can use the sample *spot* obtained at any time to determine, the excretion of PD, there is no need in the total collection urine.

## INTRODUÇÃO

Na produção de bovinos, o manejo nutricional é um dos principais fatores a ser considerado. Dietas com balanceamento protéico incorreto, normalmente estão associadas com grandes perdas de nitrogênio pela urina. Além disso, a maior parte dos aminoácidos absorvidos pelos ruminantes é proveniente da proteína microbiana sintetizada no rúmen que responde por 50 a 100% das exigências dietéticas de proteína metabolizável para bovinos de corte (NRC, 1996).

Desta forma, o objetivo básico da nutrição de ruminantes visa maximizar o fluxo de proteína microbiana para o intestino delgado, em virtude de seu excelente balanceamento de aminoácidos, aumentando assim a eficiência produtiva (Valadares Filho & Valadares, 2001)

Ao longo dos últimos anos, tem sido demonstrado que coletas de urina têm grande aplicação na quantificação de proteína microbiana, através da excreção urinária de derivados de purinas (DP). Blaxter & Martin em 1962 e Topps & Elliot em 1965, citados por Fujihara et al. (1987), foram os primeiros a demonstrarem relação direta entre a excreção de metabólitos de purinas na urina e a produção de nitrogênio microbiano em ovinos.

Para o estabelecimento desta relação, assume-se que os ácidos nucléicos presentes no duodeno são de origem predominantemente microbiana e que, após a digestão intestinal, os nucleotídeos purínicos, adenina e guanina, são absorvidos, catabolizados e excretados na urina como hipoxantina, xantina, ácido úrico e, principalmente, alantoína (Perez et al., 1996). Segundo Chen & Gomes (1992), em bovinos alantoína e ácido úrico são os principais derivados de purinas presentes na urina por causa da alta

atividade da enzima xantina oxidase no sangue e nos tecidos, que converte xantina e hipoxantina em ácido úrico antes da excreção.

Em vários estudos confirmou-se a relação direta entre produção de proteína microbiana e excreção de DP na urina. Rennó et al. (2000), trabalhando com bovinos fistulados, observaram que não houve diferença entre a produção de proteína microbiana quantificada pelo método das purinas no abomaso e pela excreção urinária de derivados de purinas. Vagnoni et al. (1997) e Johnson et al. (1998) concluíram que a excreção urinária de DP apresentou correlação positiva com o fluxo de N microbiano no abomaso.

A quantificação da excreção de DP na urina requer coleta total de urina, uma técnica laboriosa como rotina experimental. O tempo de coleta necessário para obtenção de amostras representativas da condição do animal tem variado bastante entre estudos. Chen & Gomes (1992) afirmaram que, para reduzir erros decorrentes de variações na produção urinária, as coletas de urina deveriam ser feitas durante pelo menos cinco dias.

Poucos experimentos nos quais utilizaram fêmeas com cateter foram descritos. Nesses estudos, os tempos de coleta foram de cinco (Susmel et al., 1994), quatro (Valadares et al., 1997) e três dias (Vagnoni et al., 1997). Ressalta-se que o uso de cateteres pode causar desconforto e aumentar o risco de infecções urogenitais, principalmente quando utilizados por tempo prolongado. De acordo com Fleming et al. (1991), Valadares et al. (1997) e Leal et al. (2007), o período de coleta com duração de 24 horas poderia ser representativo da excreção urinária, dispensando a coleta de urina durante períodos longos. Segundo Barbosa et al. (2006), o período de coleta de urina de 24 horas é suficiente para a avaliação da excreção diária de bovinos Nelore, independentemente de serem novilhas, machos castrados, ou machos não-castrados ou vacas em lactação.

Por outro lado, considerando-se que a maior parte do rebanho brasileiro é criada a pasto, é praticamente impossível proceder-se à coleta total de urina. 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. A utilização da amostra *spot* se baseia na relativa constância da excreção de creatinina por unidade de peso.

A creatinina é uma substância formada nos músculos pela remoção não enzimática de água do fosfato de creatina a qual se origina do metabolismo do tecido muscular (Harper et al., 1982). A proporção de músculo no corpo de uma série de animais é relativamente constante com o conteúdo de creatina, oferecendo uma explanação satisfatória para a eliminação da creatinina diária, primeiro notada por Folin et al. (1905), citado por Myers & Fine (1913) e Palmer et al. (1914).

Foi demonstrado por Bloch & Schoenheimer (1939), após a administração em ratos de [<sup>15</sup>N] creatina, que esta se distribuiu homogeneamente no *pool* da creatina corporal, bem como, na creatinina excretada na urina. Observou-se constância nessa relação durante um período de cinco dias, sugerindo que a creatina é o único precursor da creatinina, concluindo-se claramente que a conversão de creatina em creatinina é um processo irreversível.

Borsook & Dubnoff (1947) relataram que 98% da reserva de creatina do corpo estão nos músculos, principalmente na forma de fosfocreatina, sendo esta um imediato precursor da creatinina. Aproximadamente 2% do *pool* de creatina corporal são convertidos a creatinina diariamente (Bloch et al., 1941). Devido à natureza não-iônica e à permeabilidade das membranas, a creatinina difunde-se dos tecidos para o sangue e é excretada pelos rins na urina. A excreção urinária de creatinina durante um período de

24 horas pode ser utilizada para obter-se uma estimativa da massa muscular total (Virgili et al., 1994).

Van Niekerk et al. (1963), avaliando a excreção urinária de creatinina como índice para prever a composição corporal de ovinos de diferentes idades e submetidos a diferentes tipos de dieta, não encontraram efeitos significativos da idade e da dieta nem interação entre as mesmas sobre a excreção urinária de creatinina por unidade de proteína corporal.

Esses autores relataram que a excreção urinária de creatinina permitiu prever com alta precisão a proporção de proteína, de água e de massa livre de gordura no corpo vazio de ovinos independentemente do tamanho, grau de acabamento e do histórico nutricional dos animais. Dessa forma, parece que, mesmo com dois animais de mesmo peso corporal e grau de acabamento diferenciado, não há interferência na excreção de creatinina quando esta é relacionada à quantidade de proteína ou massa magra no corpo vazio.

No entanto, como a proporção dos tecidos varia em cada estágio de desenvolvimento, é possível que haja variações na excreção diária de creatinina, expressa em função do peso corporal. Chizzotti et al. (2008), trabalhando com novilhas Holandesas, desenvolveram equação para estimar a excreção diária de creatinina (EC) em função do peso corporal para animais em crescimento, em que  $EC \text{ (mmol/kg PC)} = 0,28 \pm 0,01 - 0,000097 \pm 0,000015 \times PC$ .

Deste modo, animais com diferentes condições corporais e diferentes proporções de músculo e gordura podem excretar diferentes quantidades de creatinina para um mesmo peso corporal. Portanto, pode ser que a excreção de creatinina baseada na massa magra ou na proteína no corpo vazio seja um melhor preditor do que a excreção baseada no peso corporal ou peso corporal metabólico.

Contudo, para se obter a composição corporal, deve-se avaliar a composição da carcaça, que é o principal constituinte do corpo vazio animal. A avaliação direta da composição da carcaça, ou seja, sua dissecação completa e a análise de seus constituintes individuais é o método mais acurado. No Brasil, entretanto, poucos são os trabalhos para fins de predição da composição da carcaça de animais zebuínos, apesar de o rebanho bovino brasileiro ter na sua constituição genética cerca de 80-85% de genes de origem zebuína (Josahkian, 1999).

Com o conhecimento da composição física da carcaça (músculo, osso e gordura), ou ainda da composição química (proteínas e lipídeos) poderiam ser estabelecidos parâmetros mais acurados para compor equações para predizer a excreção diária de creatinina em animais Nelore; também poderia se buscar um valor médio para a excreção de creatinina para bovinos de corte de diferentes grupos genéticos graus de acabamento de carcaça.

Assumindo-se que a excreção de creatinina seja constante e diretamente proporcional ao peso corporal, a coleta total pode ser substituída pela coleta *spot*, sendo uma alternativa simples e prática para avaliação de rebanhos. Entretanto, Fujihara et al. (1987) sugeriram que, apesar da excreção de creatinina ser constante, existe uma variação na excreção de DP ao longo do dia.

Chen et al. (1992) avaliaram a variação da concentração de creatinina e DP no soro e na urina de quatro novilhas, com peso médio de 204 kg. Foram detectadas variações nas concentrações urinárias de creatinina e DP ao longo do dia (08h00-12h00, 12h00-16h00, 16h00-20h00, 20h00-00h00, 00h00-08h00), porém as variações da concentração de creatinina foram similares às variações das concentrações de DP e devidas à diferença no volume de urina excretado naqueles intervalos. Dessa forma, uma mudança no volume urinário pode alterar a concentração sem alterar a excreção

diária de creatinina e DP e a relação DP:creatinina. Segundo os autores, a relação DP:creatinina é pouco afetada por variações diurnas e, portanto, a coleta *spot* pode ser utilizada para estimar a produção de proteína microbiana no rúmen.

Chen et al. (1995) descreveram que a relação entre as concentrações de DP:creatinina em amostras *spot* de urina não apresentou diferença significativa, quando obtidas em coletas a intervalos de uma hora, sendo linearmente correlacionada com a excreção diária de DP, o que torna possível a utilização da amostra *spot* para estimar a excreção diária de DP.

Assim, o uso de amostras *spot* de urina pode ser uma técnica viável e promissora, a qual permite a obtenção de resultados de forma rápida, prática e sem causar desconforto ou prejuízo ao animal. Mas as perdas nitrogenadas e a produção microbiana só poderão ser obtidas utilizando amostra *spot* de urina com conhecimento prévio da excreção de creatinina.

Dessa forma, no presente estudo tiveram-se como objetivos avaliar a relação do peso vivo, da quantidade de músculo na carcaça, da área de olho de lombo e da espessura de gordura subcutânea com a excreção diária de creatinina em novilhas Nelore de diferentes pesos. Avaliaram-se também as excreções totais de creatinina a intervalos de 4 e 24 horas e as relações derivados de purinas:creatinina, uréia:creatinina e compostos nitrogenados totais:creatinina, obtidas de coletas *spot* de urina a intervalos de 2 horas.



## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- BARBOSA, A.M.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. 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.
- BLOCH, K.; SCHOENHEIMER, R. RITTEMBERG, D. Rate of formation and disappearance of body creatinine in normal animals. **The Journal of Biological Chemistry**, v.138, p.155-166, 1941.
- BLOCH, K.; SCHOENHEIMER, R. Studies in protein metabolism. The metabolic relation of creatine and creatinine studied with isotopic nitrogen. **The Journal of Biological Chemistry**, v.131, n.1, p.111-119, 1939.
- BORSOOK, H.; DURNOFF, J.W. The hydrolysis of phosphocreatinine and the origin of urinary creatinine. **The Journal of Biological Chemistry**, v.168, n.2, p.493-510, 1947.
- CHEN, X.B., MEJIA, A.T., KYLE, D.J. et al. 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.; GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – an overview of technical details. Bucksburnd: Rowett Research Institute; **International Feed Resources Unit**, 1992, 21p. (Occasional publication).
- CHEN, X.B., GRUBIC, G., ORSKOV, E.R. et al. Effect of feeding frequency on diurnal variation in plasma and urinary purine derivatives in steers. **Animal Production**, v.55, p.185-191, 1992.
- CHIZZOTTI, M.L, VALADARES FILHO, S.C., VALADARES, R.F.D. et al. Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. **Livestock Science**, v.113, p.218-225, 2008.
- 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.
- HARPER, H.A.; RODWELL, V.W.; MAYES, P.A. **Manual de química fisiológica**. 5.ed. São Paulo: Atheneu, 1982, 736p.
- JOHNSON, L.M.; HARRISON, J.H.; RILEY, R.E. Estimation of the flow of microbial nitrogen to the duodenum using urinary uric acid or allantoin. **Journal of Dairy Science**. v.81, n.9, p.2408-2420, 1998.
- JOSAHKIAN, L.A. Associação Brasileira dos Criadores de Zebu – Uma Empresa de Genética Tropical. In: SIMCORTE – SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 1., 1999, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1999. p.21-28.
- LEAL, T.L., VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Variações diárias nas excreções de creatinina e derivados de purinas em novilhas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.905-911, 2007.
- MYERS, V.C.; FINE, M. S. The creatine content of muscle under normal conditions. Its relation to the urinary creatinine. **The Journal of Biological Chemistry**, v.14, n.1, p.9-26, 1913.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7. ed. Washington, D. C: National Academy, 1996. 242p.
- PALMER, W.W.; MEANS, J. H.; GAMBLE, J. L. Basal metabolism and creatinine elimination. **The Journal of Biological Chemistry**, v.19, n.2, p.239-244, 1914.
- 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 <sup>15</sup>N and purine bases as markers of microbial-nitrogen entering the duodenal. **British Journal of Nutrition**, v.75, p.699-709, 1996.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES, R.F.D.; LEÃO, M.I. Estimativa da produção de proteína microbiana pelos derivados de purinas na urina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.1223-1234, 2000.
- 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.257-265, 1994.

- 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, 1997.
- 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:UFLA, 2001.
- VAN NIEKERKE, B.D.H.; REID, J.T.; BENSADOUN, A. et al. Urinary creatinine as an index of body composition. **The Journal of Nutrition**. v.79, n.63, p.463-473, 1963.
- VIRGILI, F.; MAIANI, G.; ZAHOOR, Z.H. et al. Relationship between fat-free mass and urinary excretion of creatinine and 3-methylhistidine in adult humans. **Journal of Applied Physiology**. v.76, p.1946–1950, 1994.

**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 Purinas e de Compostos Nitrogenados em Novilhas Nelore**

**Resumo** - Objetivou-se avaliar a relação entre o peso corporal e a composição da carcaça com a excreção urinária de creatinina, as excreções diárias de creatinina a intervalos de 4 e 24 horas e as relações de derivados de purina e compostos nitrogenados com a creatinina obtidas de coleta *spot* de urina a intervalos de 2 horas. Utilizaram-se quinze novilhas Nelore, sendo distribuídas em três grupos em função do peso corporal (baixo, médio, alto). E os animais do grupo de maior peso corporal foram distribuídos em dois subgrupos (alto voluntário e alto restrito), sendo que a um deles a dieta foi fornecida ao nível próximo da manutenção (1,3% PC). Para os outros três grupos, a mesma dieta, constituída de 60% de volumoso e 40% de concentrado, foi fornecida *ad libitum*. As coletas de urina foram realizadas utilizando-se sondas de Folley nº 22 ou 26. A excreção diária de creatinina foi influenciada pelo peso corporal e pela quantidade de músculo (MUS) na carcaça, conforme as seguintes equações de regressão:  $C \text{ (g)} = 0,397530 + 0,0441496 \text{ PC} - 0,0596162 \text{ MUS}$ ;  $C \text{ (mg/kg PC)} = 28,0059 + 0,041690 \text{ PC} - 0,144537 \text{ MUS}$ . A excreção diária de creatinina encontrada nesse estudo foi de 26,35 mg/kg PC ou 0,95 mmol/kg PC<sup>0,75</sup> e 0,91 mmol/kg PC<sup>0,75</sup> quando a coleta foi feita a intervalos de 4 horas. De todas as variáveis independentes, o peso corporal foi a que teve maior efeito sobre a excreção de creatinina. A partir da coleta *spot* de urina a intervalos de 2 horas foi observado que a relação DP:C não variou durante o dia ( $P > 0,05$ ), permitindo o cálculo da excreção de DP (mmol/dia) ser efetivado com coletas obtidas em qualquer horário do dia. Houve efeito ( $P < 0,05$ ) dos períodos de coleta *spot* de urina sobre as relações U:C e NT:C, que foram avaliadas pela série de Fourier, obtendo-se dois pontos diários próximos à média de 7,77 para a relação U:C e 6,42 para a relação NT:C. Os dois pontos ficaram bem próximos aos horários das alimentações (08h00 e 16h00). Conclui-se que a ausência do efeito do tempo de coleta sobre a relação DP:C indica que pode-se usar a amostra *spot* obtida em qualquer horário para determinar a excreção de DP. Para estimar as excreções de uréia e de compostos nitrogenados totais, recomendam-se duas coletas *spot*, imediatamente após o fornecimento das dietas.

**Palavras-chave:** creatina, músculo, proteína microbiana, uréia.

**The Influence of the Body Weight and the Characteristics of the Carcass  
about the Creatinine Excretion and the Use of *Spot* Sample of Urine to Estimate  
the Excretion of Purine Derivatives and the Nitrogenous Compounds in Nelore  
Heifers.**

**Abstract** - The objective of this trial was to evaluate the relation between the body weight and the carcass composition with the urine excretion of creatinine, daily excretions of creatinine at intervals of 4 and 24 hours and the relations between the purine derivatives and the nitrogenous compounds with the creatinine obtained from *spot* urine samples at intervals of 2 hours. Fifteen Nelore heifers were used, grouped into three groups according to body weight (low, medium, high). The animals from the higher body weight group were distributed into two subgroups (voluntary high and restricted high) and one of them the diet was provided near to the maintenance level (1,3% BW). For the other three groups, the same diet, composed of 60% roughage and 40% concentrate, was supplied *ad libitum*. The collections of urine were performed using N. 22 or 26 Folley catheters. The daily excretion of creatinine was influenced by body weight and muscle (MUS) in the carcass, as the following regression equations:  $C \text{ (g)} = 0,397530 + 0,0441496 \text{ BW} - 0,0596162 \text{ MUS}$ ;  $C \text{ (mg/kg BW)} = 28,0059 + 0,041690 \text{ BW} - 0,144537 \text{ MUS}$ . The daily excretion of creatinine found in this study was 26,35 mg/kg BW. or 0,95 mmol/kg BW<sup>0,75</sup> and 0,91 mmol/ kg BW<sup>0,75</sup> when the collection was done at intervals of 4 hours. Of all the independent variables, the body weight had greater effect over the creatinine excretion. The lack of time effect of collection over the relationship of purine derivatives:creatinine indicates that can use the sample *spot* to determine the excretion of purine derivatives at any time of day. It is recommended two *spot* urine collections, right after the food is given (08h00 and 16h00) to estimate the excretion of urea and total nitrogenous compounds.

**Keywords:** creatine, microbial protein, muscle, urea.

## INTRODUÇÃO

Em pesquisas relacionadas com a avaliação de alimentos muitas vezes é necessário submeter os animais a procedimentos cirúrgicos, como a implantação de cânulas em diferentes partes do trato gastrintestinal. Como essas técnicas são laboriosas e podem comprometer o bem-estar animal, o interesse por métodos não invasivos na experimentação animal tem aumentado, como os que envolvem coletas de urina.

Blaxter & Martin em 1962 e Topps & Elliot em 1965, citados por Fujihara et al. (1987), foram os primeiros a demonstrarem relação direta entre a excreção de metabólitos de purinas na urina e a produção de nitrogênio microbiano em ovinos.

Entretanto, a quantificação da excreção de derivados de purina na urina requer coleta total de urina, uma técnica laboriosa como rotina experimental. Na tentativa de simplificar a coleta de urina, a creatinina na urina tem sido utilizada como indicador da produção urinária diária.

A creatinina é uma substância formada nos músculos pela remoção não enzimática de água do fosfato de creatina a qual se origina do metabolismo do tecido muscular (Harper et al., 1982). Assim, a excreção urinária de creatinina é dependente da massa muscular e, portanto, proporcional ao peso do animal.

No entanto, como a proporção dos tecidos varia em cada estágio de desenvolvimento, é possível que haja variações na excreção diária de creatinina, expressa como função do peso corporal. Portanto, pode ser que a excreção de creatinina baseada na massa magra ou na proteína no corpo vazio seja melhor preditor do que a excreção baseada no peso corporal ou peso metabólico. Van Niekerk et al. (1963) relataram que a excreção urinária de creatinina prediz com alta precisão a proporção de proteína, de água e de massa livre de gordura no corpo vazio de ovinos

independentemente do tamanho, grau de acabamento e do histórico nutricional dos animais.

Se a excreção de creatinina puder ser considerada constante ao longo do dia e proporcional ao peso corporal, pode-se coletar amostra isolada, denominada amostra *spot*, o que pode simplificar a estimativa da produção de proteína microbiana através da excreção de derivados de purina na urina. Entretanto, existem dúvidas sobre possíveis variações na excreção de DP em função do tempo, o que inviabilizaria a obtenção de amostra *spot* a qualquer hora do dia.

Deste modo, objetivou-se avaliar a relação do peso corporal, da quantidade de músculo na carcaça, da área de olho de lombo e da espessura de gordura subcutânea com a excreção diária de creatinina em novilhas Nelore de diferentes pesos. Avaliaram-se também as excreções totais de creatinina a intervalos de 4 e 24 horas e as relações derivados de purinas:creatinina (DP:C), uréia:creatinina (U:C) e compostos nitrogenados totais:creatinina (NT:C), obtidas de coletas *spot* de urina a intervalos de 2 horas.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido no Laboratório Animal e no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia (DZO) da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa – MG.

Foram utilizadas quinze novilhas da raça Nelore, confinadas em baias individuais, cobertas, com área de 3 m<sup>2</sup> e providas de comedouros e bebedouros individuais. As novilhas foram agrupadas em função do peso corporal em três grupos, sendo um grupo com quatro novilhas com peso médio de 127 kg ± 24,2 (baixo), três de 221 kg ± 22,3 (médio) e oito de 434 kg ± 29,2 (alto). Os animais do grupo de maior peso (alto) foram distribuídos aleatoriamente em dois subgrupos, cada um com quatro animais, sendo que

a um deles (alto restrito) a dieta foi fornecida ao nível próximo da manutenção (1,3% do peso corporal) e ao outro grupo (alto voluntário) a dieta foi fornecida *ad libitum*. Para o grupo baixo e médio, a mesma dieta foi fornecida *ad libitum*.

Inicialmente, todos os animais foram pesados, identificados e everminados. As novilhas permaneceram por cerca de 30 dias em período de adaptação, recebendo a mesma dieta, constituída de 60% de volumoso (silagem de milho), 30% de concentrado (mistura à base de casca de soja, milho moído, farelo de soja, uréia/sulfato de amônia 9:1, cloreto de sódio e minerais) e 10% de caroço de algodão. A proporção dos ingredientes no concentrado e as composições químicas médias da silagem de milho, do caroço de algodão, do concentrado e da dieta podem ser vistas nas Tabelas 1 e 2, respectivamente.

A dieta foi formulada para conter 15% de PB na matéria seca total de acordo com o NRC (2001) e foram fornecidas duas vezes ao dia, às 8h00 e às 16h00, permitindo-se sobras de no máximo 10% do fornecido. As quantidades de alimento oferecido e de sobras foram registradas diariamente por animal.

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

Ingredientes	%
Casca de Soja	50,00
Milho Moído	27,70
Farelo de Soja	17,30
Uréia/Sulfato de Amônia (9:1)	2,00
Cloreto de sódio	1,00
Premix Mineral	2,00



Tabela 2 – Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e carboidratos não-fibrosos (CNF) da silagem de milho, do concentrado, do caroço de algodão e da dieta experimental, com base na matéria seca

Itens	Silagem de milho	Concentrado	Caroço de algodão	Dieta
MS (%)	28,25	88,73	91,23	52,69
MO <sup>1</sup>	95,72	95,42	95,94	95,66
PB <sup>1</sup>	8,44	24,40	23,13	14,70
EE <sup>1</sup>	2,58	1,20	23,10	4,22
FDN <sup>1</sup>	50,25	40,60	44,98	55,31
CNF <sup>1,2</sup>	34,45	1,49	4,72	21,43

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

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

Após a adaptação de 30 dias, seguiu-se o período experimental de sete dias para amostragens de fornecido, sobras, fezes e urina, mais três dias para o abate dos animais, para obtenção dos dados de composição corporal.

As amostras dos alimentos fornecidos e das sobras foram acondicionadas em sacos plásticos e congeladas a - 20°C para posteriores análises. A partir das sobras diárias foi produzida amostra composta para cada animal.

As coletas totais de fezes foram efetuadas diariamente, do primeiro ao sétimo dia experimental, diretamente do piso, imediatamente após a excreção. Ao final de cada dia de coleta, as fezes recolhidas foram pesadas, homogeneizadas, e alíquota de 2% da excreção diária por animal foi acondicionada em saco plástico e armazenada a - 20°C.

No primeiro dia experimental, aos animais foram adaptados cateteres de Folley, duas vias, com balão de 30 mL, de número 22 ou 26, conforme o peso da novilha. Na extremidade livre do cateter foi adaptada uma mangueira de polietileno, pela qual a urina foi conduzida até um recipiente de plástico com tampa. Esses recipientes foram

acondicionados em caixas de isopor com gelo para manter a urina resfriada. Toda a urina foi colhida sem conservantes e mantida sob refrigeração durante o período de coleta.

No primeiro e segundo dias experimentais, amostras de urina a cada duas horas (00h00, 02h00, 04h00, 06h00, 08h00, 10h00, 12h00, 14h00, 16h00, 18h00, 20h00 e 22h00) foram coletadas diretamente da mangueira, sendo duas alíquotas de aproximadamente 50 mL filtradas em gaze e armazenadas em frascos plásticos sob refrigeração (4°C). Os resultados considerados foram as médias dos dois dias em cada horário.

No terceiro e quarto dias experimentais, foram obtidas amostras totais de urina a intervalos de 4 horas (00h00-04h00, 04h00-08h00, 08h00-12h00, 12h00-16h00, 16h00-20h00, 20h00-00h00 horas). Ao término de cada período de 4 horas de coleta, a urina total foi pesada, homogeneizada e amostrada, sendo o restante descartado. Foram coletadas duas alíquotas e armazenadas conforme descrito para as amostras de 2 horas. Os resultados considerados foram as médias dos dois dias em cada horário.

A partir do quinto dia experimental, durante três dias, foram obtidas ao término de cada período de 24 horas às 16h00 horas a quantidade de urina excretada. A urina foi pesada, homogeneizada e amostrada. Foram coletadas duas alíquotas e armazenadas conforme descrito para as amostras de 2 horas. Os resultados considerados foram as médias dos três dias.

Devidamente identificadas, as amostras foram prontamente analisadas. Uma alíquota de cada amostra foi enviada ao laboratório de análises clínicas para quantificação das concentrações de creatinina, uréia e ácido úrico; a outra alíquota foi utilizada para análise de alantoína no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da UFV.

Ao final do experimento, as amostras de alimentos, sobras e fezes foram secas em estufa de ventilação forçada (60°C por 72 horas) e processadas em moinho de facas com peneira de malha de 1 mm. Posteriormente, elaboraram-se amostras compostas, com base no peso seco ao ar, por animal.

As amostras da silagem de milho, concentrado, caroço de algodão, sobras e fezes foram analisadas no Laboratório de Nutrição Animal do DZO/UFV quanto aos seus teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), compostos nitrogenados totais (NT) e extrato etéreo (EE), seguindo as recomendações de Silva & Queiroz (2002). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) foram obtidos de acordo com o método proposto por Van Soest & Robertson (1985).

Na urina foram determinadas as concentrações de creatinina, uréia e ácido úrico por reação de ponto final utilizando-se kits comerciais. A concentração de creatinina (C) foi determinada segundo a metodologia Labtest (Creatinina Labtest)®, um sistema colorimétrico. Para a determinação da concentração de uréia (U) foi utilizado o método Urease-Labtest (Uréia CE Labtest)®, um sistema enzimático-colorimétrico. A estimativa da concentração de ácido úrico foi realizada usando-se o método enzimático-Trinder (Ácido Úrico Liquiform Labtest)®. A concentração de alantoína foi determinada pelo método colorimétrico, conforme Fujihara et al. (1987). O teor de compostos nitrogenados totais (NT) na urina foi estimado pelo método de Kjeldhal (Silva & Queiroz, 2002).

Nas amostras de urina *spot*, obtidas a cada 2 horas, foram calculadas as relações dos derivados de purina (DP), uréia e compostos nitrogenados totais com a creatinina (DP:C, U:C, NT:C ). A partir das amostras de 4 e 24 horas foram calculadas as excreções de C, U, NT e DP (alantoína + ácido úrico) na urina, multiplicando-se o

volume urinário por suas respectivas concentrações. A excreção de 4 horas foi multiplicada por seis para obter a excreção diária.

Do oitavo ao décimo dia, os animais foram abatidos para estimar a composição física da carcaça e o peso do corpo vazio (PCVZ). O abate foi efetuado conforme a Resolução do CFMV n°: 714, de 20 de junho de 2002. Antes do abate, os animais foram submetidos a jejum de 16 horas. Após o abate, o trato gastrintestinal (rúmen, retículo, omaso, abomaso e intestinos delgado e grosso) de cada animal foi esvaziado e lavado. Os pesos do coração, pulmões, fígado, baço, rins, gordura interna, carne industrial, mesentério, cauda e aparas (traquéia, esôfago e aparelho reprodutor), juntamente com os do trato gastrintestinal lavado, foram somados aos das demais partes do corpo (carcaça, cabeça, couro, pés e sangue) para quantificação do peso de corpo vazio.

A carcaça de cada um dos animais foi dividida em duas meias-carcaças, as quais foram pesadas e, em seguida, resfriadas ( $-4^{\circ}\text{C}$ , durante 18 horas). Decorrido esse tempo, as meias-carcaças foram retiradas da câmara fria, novamente pesadas, e, na meia-carcaça esquerda, foram efetuadas as medidas de espessura de gordura subcutânea (EGS) e de área de olho de lombo (AOL) na altura da 12<sup>a</sup> costela.

Todas as meias-carcaças esquerdas foram totalmente dissecadas, procedendo-se à separação dos componentes músculo, gordura e ossos que foram, posteriormente, pesados para avaliação da composição física da mesma. O componente músculo foi determinado pela quantidade de músculo na carcaça (kg).

A comparação entre grupos foi realizada por intermédio de análise de variância segundo delineamento inteiramente casualizado, utilizando-se o teste de Tukey-Kramer para comparação entre médias. Para o caso específico das amostras de urina correspondentes a intervalos de 4 horas e amostras *spot* obtidas a cada 2 horas os dados foram avaliados em esquema de medidas repetidas no tempo, utilizando-se estrutura de

(co)variância do tipo simetria composta (Kaps & Lamberson, 2004). Nesse caso, empregou-se o teste de Tukey-Kramer e o critério de Scott-Knott para comparação entre médias correspondentes aos intervalos de 4 horas e às amostras *spot* obtidas a cada 2 horas, respectivamente. As relações entre variáveis foram por interpretadas por intermédio de análises de trilha e de regressão linear.

Antecipa-se que, em virtude da variação ao longo do dia relações U:C e NT:C avaliadas por intermédio das amostras *spot*, procedeu-se à interpretação do perfil nictemeral dessas relações pro intermédio da função não-linear em série de Fourier em esquema de polinômio trigonométrico (Detmann et al., 2007), descrita por:

$$Y_t = A_o + \sum_{k=1}^K [A_k \text{sen}(kct) + B_k \text{cos}(kct)] \quad (1);$$

em que:  $Y_t$  são valores de U:C e NT:C no momento de amostragem  $t$ ;  $A_0$  são estimativas médias de U:C e NT:C;  $A_k$  e  $B_k$  são parâmetros sem interpretação biológica direta;  $c$  é o ciclo ( $\text{rad h}^{-1}$ ) de U:C e NT:C;  $k$  é o indexador referente à série de Fourier, sendo inteiro e positivo, variando de 1 a  $K$ ; e  $t$  é o momento de amostragem (horário).

Para ambas as relações o ajustamento foi realizado considerando-se  $k = 2$ . Assim, o período fundamental como (Detmann et al., 2007):

$$P = \frac{\pi}{c} \quad (2);$$

em que:  $P$  é o período fundamental (horas).

Todos os procedimentos estatísticos foram realizados por intermédio do programa SAS (Statistical Analysis System), utilizando-se os procedimentos MIXED, REG e NLIN e adotando 5% como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estão apresentadas na Tabela 3 as médias de consumos obtidas para os grupos de novilhas de diferentes pesos e para o grupo de novilhas que tiveram o consumo restrito. Observa-se que os consumos, expressos em kg/dia, de MS, MO, PB, FDN e CNF foram maiores ( $P < 0,05$ ) para os animais dos grupos médio, alto voluntário e alto restrito. E o consumo de EE foi maior ( $P < 0,05$ ) para os animais dos grupos médio e alto voluntário. Já os consumos de MS, MO e FDN, expressos em % do PC, foram maiores para os grupos de maior peso corporal (alto voluntário e alto restrito).

A composição corporal, principalmente, a porcentagem de gordura corporal é apontada como um dos principais fatores metabólicos relacionados ao controle de ingestão (NRC, 1987). Sendo de desenvolvimento mais tardio, o tecido adiposo representa menor proporção no corpo de animais jovens que, portanto, ingerem mais MS em porcentagem do peso corporal, como pode ser observado na Tabela 3.

Os coeficientes de digestibilidade aparente total e o teor de nutrientes digestíveis totais também são apresentados na Tabela 3. As digestibilidades da MS, MO, PB, FDN e CNF e o teor de NDT das dietas foram similares ( $P > 0,05$ ) entre os grupos de animais.

Tabela 3 – Médias, erros-padrão da média (EPM) e probabilidades (P) para os consumos e coeficientes de digestibilidade aparente total de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos não-fibrosos (CNF) e o teor de nutrientes digestíveis totais (NDT) obtidas para novilhas de diferentes pesos

Itens	Grupos				EPM	P
	Baixo	Médio	Alto	Alto		
			Voluntário	Restrito		
<b>Consumo (kg/dia)</b>						
MS	3,31 <sup>b</sup>	5,25 <sup>a</sup>	6,37 <sup>a</sup>	4,86 <sup>ab</sup>	0,38	0,0013
MO	3,17 <sup>b</sup>	5,03 <sup>a</sup>	6,10 <sup>a</sup>	4,65 <sup>ab</sup>	0,37	0,0013
PB	0,50 <sup>b</sup>	0,78 <sup>a</sup>	0,96 <sup>a</sup>	0,72 <sup>ab</sup>	0,06	0,0019
EE	0,14 <sup>c</sup>	0,23 <sup>ab</sup>	0,29 <sup>a</sup>	0,21 <sup>bc</sup>	0,02	0,0009
FDN	1,83 <sup>b</sup>	2,90 <sup>a</sup>	3,50 <sup>a</sup>	2,69 <sup>ab</sup>	0,22	0,0016
CNF	0,79 <sup>b</sup>	1,24 <sup>a</sup>	1,50 <sup>a</sup>	1,13 <sup>ab</sup>	0,08	0,0007
<b>Consumo (%PC)</b>						
MS	2,59 <sup>a</sup>	2,36 <sup>a</sup>	1,46 <sup>b</sup>	1,13 <sup>b</sup>	0,09	0,0001
MO	2,48 <sup>a</sup>	2,26 <sup>a</sup>	1,40 <sup>b</sup>	1,08 <sup>b</sup>	0,09	0,0001
FDN	1,43 <sup>a</sup>	1,30 <sup>a</sup>	0,80 <sup>b</sup>	0,63 <sup>b</sup>	0,05	0,0001
<b>Digestibilidade (%)</b>						
MS	66,39	65,58	67,16	71,50	2,18	0,3289
MO	68,25	67,68	69,59	73,82	2,14	0,2768
PB	65,89	65,38	65,37	69,37	2,26	0,5838
EE	80,86 <sup>a</sup>	68,29 <sup>b</sup>	80,51 <sup>a</sup>	88,87 <sup>a</sup>	2,19	0,0024
FDN	72,79	72,04	71,49	75,45	1,87	0,5022
CNF	60,25	61,95	68,79	72,49	2,87	0,0515
<b>Nutrientes Digestíveis Totais (%)</b>						
NDT	71,90	70,79	73,51	77,54	2,12	0,2398

<sup>a, b, c</sup> - Médias seguidas de letras diferentes, na linha, diferem pelo teste de Tukey-kramer a 5% de probabilidade.

As médias das excreções diárias de creatinina, uréia, compostos nitrogenados totais e derivados de purina expressas em diversas unidades em função dos grupos de peso corporal dos animais são apresentadas na Tabela 4. Observou-se que a relação média entre PCVZ e PC dos animais foi de 0,92.

A excreção de creatinina em 24 horas expressa em g foi maior ( $P < 0,05$ ) para os grupos de animais de maior peso. Quando a excreção de creatinina diária foi expressa em função do peso corporal ou do peso de corpo vazio, esse não diferiu entre os grupos de animais ( $P > 0,05$ ). O grupo baixo apresentou menor valor ( $P < 0,05$ ), quando a excreção de creatinina foi expressa em relação ao peso metabólico.



Tabela 4 – Médias, erro-padrão da média (EPM) e probabilidades (P) para as excreções de creatinina, uréia, compostos nitrogenados totais e derivados de purina obtidas a partir de coleta total de 24 horas para os grupos de animais

Variáveis	Grupos				EPM	P
	Baixo	Médio	Alto	Alto		
			Voluntário	Restrito		
<b>Creatinina</b>						
g/dia	3,41 <sup>c</sup>	6,20 <sup>b</sup>	11,16 <sup>a</sup>	11,01 <sup>a</sup>	0,51	0,0001
mg/kg PC	26,84	27,96	25,46	25,55	0,67	0,1002
mg/kg PCVZ	29,12	30,46	27,55	27,94	0,83	0,1544
mmol/kg PC <sup>0,75</sup>	0,80 <sup>b</sup>	0,95 <sup>a</sup>	1,03 <sup>a</sup>	1,03 <sup>a</sup>	0,03	0,0007
<b>Uréia</b>						
g/dia	22,87 <sup>b</sup>	40,14 <sup>b</sup>	85,93 <sup>a</sup>	84,21 <sup>a</sup>	6,61	0,0001
mg/kg PC	178,56	181,73	196,67	194,90	14,89	0,7816
mg/kg PCVZ	193,91	197,71	212,51	213,24	15,99	0,7735
mmol/kg PC <sup>0,75</sup>	9,98 <sup>b</sup>	11,66 <sup>ab</sup>	14,97 <sup>a</sup>	14,79 <sup>a</sup>	1,11	0,0227
<b>Compostos Nitrogenados Totais</b>						
g/dia	21,50 <sup>b</sup>	33,18 <sup>b</sup>	65,64 <sup>a</sup>	58,77 <sup>a</sup>	3,67	0,0001
mg/kg PC	168,03	151,82	150,43	137,25	13,89	0,5076
mg/kg PCVZ	182,34	165,08	162,67	150,18	15,14	0,5375
mg/kg PC <sup>0,75</sup>	126,02	113,86	112,82	102,93	10,42	0,5076
<b>Derivados de Purina</b>						
mmol/dia	82,8 <sup>c</sup>	123,7 <sup>bc</sup>	175,8 <sup>a</sup>	157,6 <sup>ab</sup>	10,07	0,0002
mmol/kg PC	0,66 <sup>a</sup>	0,56 <sup>ab</sup>	0,41 <sup>bc</sup>	0,37 <sup>c</sup>	0,04	0,0008
mmol/kg PC <sup>0,75</sup>	2,20	2,15	1,84	1,67	0,13	0,0540

<sup>a, b, c</sup> - Médias seguidas de letras diferentes, na linha, diferem pelo teste de Tukey-kramer a 5% de probabilidade.

A regressão da excreção diária de creatinina (mmol/kg PC<sup>0,75</sup>) de novilhas em crescimento em função do peso corporal é apresentada na Figura 1, mostra que a excreção diária de creatinina aumentou 0,0007 mmol/kg PC<sup>0,75</sup> ( $R^2 = 0,76$ ) para cada unidade de aumento do peso corporal.

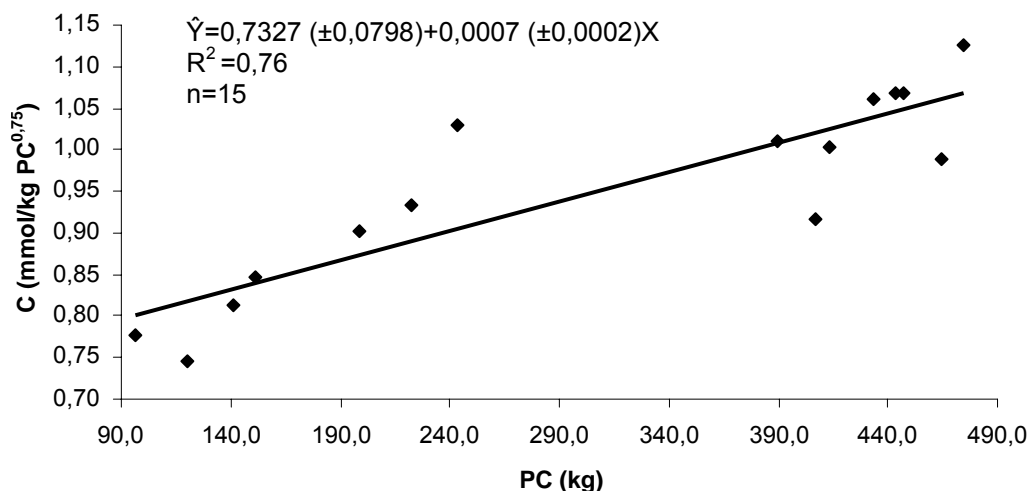


Figura 1 - Relação entre a excreção diária de creatinina (mmol/kg PC<sup>0,75</sup>) na urina e o peso corporal (kg), com a respectiva equação e o intervalo de confiança estimado para os parâmetros.

Chizzotti et al. (2008) encontraram um aumento de 0,0029 mmol/kg PC<sup>0,75</sup> ( $R^2 = 0,68$ ) na excreção diária de creatinina para cada unidade de aumento do peso metabólico. Entretanto, quando expressa em função do peso corporal, a excreção de creatinina diminuiu linearmente 0,000097 mmol/kg PC ( $P < 0,001$ ,  $R^2 = 0,70$ ) para cada unidade (kg) de aumento do peso corporal. Esse comportamento foi associado com a variação na proporção de tecido muscular em animais em crescimento. Pode ser que o crescimento do tecido muscular em animais adultos seja menos intenso e, como a creatinina é oriunda do metabolismo do tecido muscular e excretada proporcionalmente à sua atividade metabólica no corpo do animal, a excreção de creatinina em função do peso corporal varie menos em animais adultos.

Quando expressas em g/dia, as excreções de compostos nitrogenados totais (NT) e uréia (U) foram maiores ( $P < 0,05$ ) para os grupos alto voluntário e alto restrito. Também, maiores excreções de U, expressas em mmol/kg PC<sup>0,75</sup>, foram obtidas para esses grupos de maior peso (alto) em relação ao grupo de menor peso (baixo). As

excreções de NT e U, expressas em mg/kg PC ou mg/kg PCVZ, não diferiram ( $P>0,05$ ) entre os grupos de diferentes pesos.

A excreção diária de DP, expressa em mmol, foi maior ( $P<0,05$ ) para o grupo de maior peso alimentado à vontade (alto voluntário) em relação aos grupos baixo e médio. Já quando expressa em mmol/kg PC<sup>0,75</sup>, a excreção de DP não diferiu ( $P>0,05$ ) entre os grupos de diferentes pesos.

A síntese ruminal de proteína microbiana e, por conseguinte, a excreção de DP está relacionada ao consumo de alimentos, conforme pode ser observado nas Figuras 2 e 3, considerando apenas os animais de consumo voluntário.

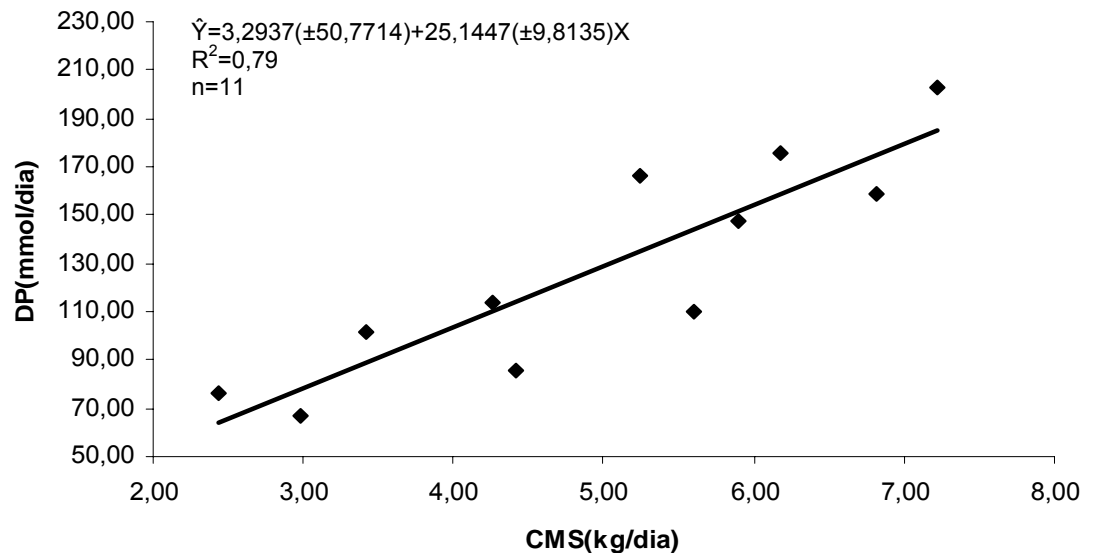


Figura 2 - Relação entre a excreção de derivados de purina (DP, mmol/dia) na urina e o consumo de matéria seca (CMS, kg/dia), com a respectiva equação e os intervalos de confiança estimados para os parâmetros.

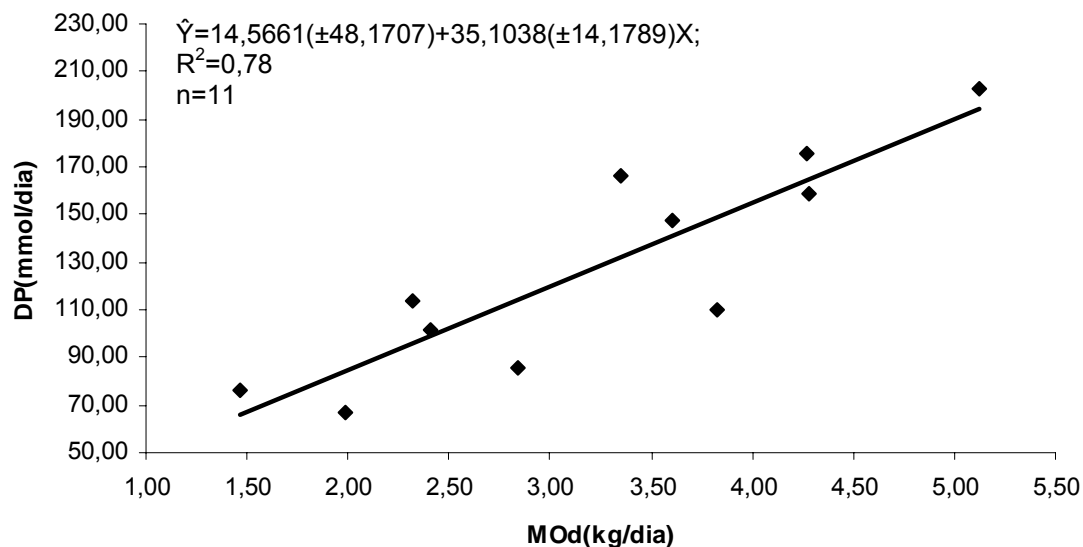


Figura 3 - Relação entre a excreção de derivados de purina (DP, mmol/dia) na urina e o consumo de matéria orgânica digestível (MOd, kg/dia), com a respectiva equação e os intervalos de confiança estimados para os parâmetros.

As médias e os desvios-padrão (dp) obtidos para as excreções diárias de creatinina, uréia, compostos nitrogenados totais (NT) e derivados de purina (DP), os efeitos de peso corporal, da quantidade de músculo na carcaça, da área de olho de lombo e da espessura de gordura subcutânea e as respectivas equações de regressão são apresentados na Tabela 5.

A excreção média de creatinina encontrada nesse estudo foi de 26,35 mg/kg PC (CV de 5,95%) ou 0,95 mmol/kg PC<sup>0,75</sup> (CV de 12,26%). O intervalo de confiança para a excreção de creatinina expressa em mg/kg PC e mmol/kg PC<sup>0,75</sup> foi IC( $\mu$ )<sub>0,95</sub> = [25,56 ≤  $\mu$  ≤ 27,14] e IC( $\mu$ )<sub>0,95</sub> = [0,89 ≤  $\mu$  ≤ 1,02], respectivamente.

Barbosa et al. (2006) encontraram excreção média diária de creatinina na urina de 27,11 mg/kg PC, em novilhas da raça Nelore, valor incluído no IC observado no presente trabalho. Entretanto, Leal et al. (2007) obtiveram excreção média de creatinina de 30,56 mg/kg PC (CV de 8,35%) ou 1,10 mmol/kg PC<sup>0,75</sup> (CV de 8,25%), trabalhando com novilhas holandesas. Para novilhos com peso médio de 283 kg, Rennó et al.

(2000), em quatro experimentos, encontraram excreção diária de creatinina de 27,36 mg/kg PC. Avaliando a excreção de creatinina em novilhos de quatro diferentes grupos genéticos, Rennó et al. (2008) encontraram média de 27,76 mg/kg PC.

As excreções diárias de creatinina, uréia, compostos nitrogenados totais e derivados de purina expressas nas diferentes unidades não foram afetadas ( $P>0,05$ ) pela área de olho de lombo (AOL – cm<sup>2</sup>) e pela espessura de gordura subcutânea (EGS - mm), como observado na Tabela 5. As excreções de creatinina expressas em g, mg/kg PC, mg/kg PCVZ e em mmol/kg PC<sup>0,75</sup> apresentaram efeito ( $P<0,05$ ) do peso corporal (kg) e da quantidade de músculo na carcaça (kg). As excreções diárias de compostos nitrogenados totais e uréia quando expressas em g também foram afetadas ( $P<0,05$ ) pelo peso corporal. A excreção de derivados de purina em todas as unidades foi afetada somente pelo peso corporal ( $P<0,05$ ).

Tabela 5 – Médias, desvios-padrão (dp), e probabilidades (P) dos efeitos de peso corporal (PC, kg), músculo (MUS, kg), área de olho de lombo (AOL, cm<sup>2</sup>) e espessura de gordura subcutânea (EGS, mm) para as excreções diárias de creatinina, uréia, compostos nitrogenados totais e derivados de purina obtidas a partir da coleta total de 24 horas

Variáveis	Estatística descritiva			Valor - P			*
	Média	dp	PC	MUS	AOL	EGS	
<b>Creatinina</b>							
g/dia	8,06	3,60	s	S	ns	ns	1
mg/kg PC	26,35	1,57	s	S	ns	ns	2
mg/kg PCVZ	28,65	1,85	s	S	ns	ns	3
mmol/kg PC <sup>0,75</sup>	0,95	0,12	s	S	ns	ns	4
<b>Uréia</b>							
g/dia	59,50	31,23	s	Ns	ns	ns	5
mg/kg PC	188,38	27,66	ns	Ns	ns	ns	
mg/kg PCVZ	204,78	29,77	ns	Ns	ns	ns	
mmol/kg PC <sup>0,75</sup>	12,93	2,97	s	Ns	ns	ns	6
<b>Compostos Nitrogenados Totais</b>							
g/dia	45,55	20,14	s	Ns	ns	ns	7
mg/kg PC	151,88	27,26	ns	Ns	ns	ns	
mg/kg PCVZ	165,07	29,51	ns	Ns	ns	ns	
mg/kg PC <sup>0,75</sup>	113,91	20,44	ns	Ns	ns	ns	
<b>Derivados de purina</b>							
mmol/dia	135,72	41,80	s	Ns	ns	ns	8
mmol/kg PC	0,49	0,14	s	Ns	ns	ns	9
mmol/kg PC <sup>0,75</sup>	1,95	0,33	s	Ns	ns	ns	10

Regressões		R <sup>2</sup>
<b>Creatinina</b>		
1	$\hat{Y} \text{ (g)} = 0,397530 + 0,0441496 \text{ PC} - 0,0596162 \text{ MUS}$	0,9907
2	$\hat{Y} \text{ (mg/kg PC)} = 28,0059 + 0,041690 \text{ PC} - 0,144537 \text{ MUS}$	0,4936
3	$\hat{Y} \text{ (mg/kg PCVZ)} = 30,3663 + 0,0614500 \text{ PC} - 0,205820 \text{ MUS}$	0,5659
4	$\hat{Y} \text{ (mmol/kg PC}^{0,75}) = 0,735514 + 0,00253957 \text{ PC} - 0,00565242 \text{ MUS}$	0,8367
<b>Uréia</b>		
5	$\hat{Y} \text{ (g)} = - 4,12994 + 0,205541 \text{ PC}$	0,8939
6	$\hat{Y} \text{ (mmol/kg PC}^{0,75}) = 7,97056 + 0,0160102 \text{ PC}$	0,5975
<b>Compostos Nitrogenados Totais</b>		
7	$\hat{Y} \text{ (g)} = 5,03100 + 0,130873 \text{ PC}$	0,8710
<b>Derivados de purina</b>		
8	$\hat{Y} \text{ (mmol)} = 55,4133 + 0,259408 \text{ PC}$	0,7945
9	$\hat{Y} \text{ (mmol/kg PC)} = 0,764484 - 0,000877087 \text{ PC}$	0,7853
10	$\hat{Y} \text{ (mmol/kg PC}^{0,75}) = 2,42573 - 0,0015238 \text{ PC}$	0,4436

s: P<0,05; ns: P>0,05

A excreção de creatinina (g/dia) em função do peso corporal e da quantidade de músculo, descrita por regressão linear múltipla, apresentou alto coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>= 0,9907), como mostra a Tabela 5. Em todas as unidades, a excreção de creatinina aumentou com o peso corporal e diminuiu com a quantidade de músculo na carcaça. Esse resultado com sinais negativos pode ser reflexo indireto da maturidade dos animais. Porque quanto mais maduro o animal, menor a proporção de músculo no corpo. Contudo, a proporção diminui, mas a massa muscular aumenta em termos absolutos.

Como no trabalho é uma condição teórica, foram calculadas regressões para excreção de creatinina diária com base apenas no peso corporal, porque para quantificar músculo numa situação prática é quase inviável. C (g) = 0,3684 + 0,0248 PC (R<sup>2</sup> = 0,9818); C (mg/kg PC) = 27,9353 – 0,0051 PC (R<sup>2</sup> = 0,2199); C (mg/kg PCVZ) =

$30,2658 - 0,0052 PC$  ( $R^2 = 0,1645$ );  $C$  (mmol/kg  $PC^{0,75}$ ) =  $0,7327 + 0,0007 PC$  ( $R^2 = 0,7611$ ).

Constata-se pela Tabela 6, que a excreção de creatinina expressa em g teve uma boa correlação, efeitos direto e indiretos somados, com o peso corporal em kg (0,9909), com a quantidade de músculo em kg (0,9722), com a área de olho de lombo em  $cm^2$  (0,9577) e com a espessura de gordura subcutânea em mm (0,8438). De todas as variáveis independentes, o peso corporal foi a que teve maior efeito, tanto direto quanto indireto via as outras variáveis.

Quando a excreção de creatinina foi expressa em mg/kg PC, o músculo foi a variável independente que apresentou maior efeito direto e indireto. E o peso corporal foi a variável independente que teve maior efeito na excreção de creatinina expressa em mmol/kg  $PC^{0,75}$ , sendo os valores da variável peso corporal bem próximos à variável músculo. As variáveis área de olho de lombo e espessura de gordura subcutânea não tiveram uma boa correlação com a excreção diária de creatinina.



Tabela 6 - Coeficientes de trilha para a excreção de creatinina em função de peso corporal (PC, kg), músculo (MUS, kg), área de olho de lombo (AOL, cm<sup>2</sup>) e espessura de gordura subcutânea (EGS, mm) e coeficientes de determinação (R<sup>2</sup>)

Efeitos	Via	Excreção de creatinina		
		g	mg/kg PC	mmol/kg PC <sup>0,75</sup>
ED de PC		1,8455	4,7465	3,8130
EI de PC	MUS	-0,9476	-6,1431	-3,2537
EI de PC	AOL	0,1434	1,4637	0,6353
EI de PC	EGS	-0,0505	-0,5360	-0,3222
Total: D + I		0,9909	-0,4689	0,8724
ED de MUS		-0,9547	-6,1887	-3,2778
EI de MUS	PC	1,8319	4,7115	3,7850
EI de MUS	AOL	0,1434	1,4631	0,6350
EI de MUS	EGS	-0,0485	-0,5148	-0,3095
Total: D + I		0,9722	-0,5289	0,8327
ED de AOL		0,1482	1,5226	0,6565
EI de AOL	PC	1,7859	4,5931	3,6898
EI de AOL	MUS	-0,9234	-5,9865	-3,1707
EI de AOL	EGS	-0,0529	-0,5623	-0,3380
Total: D + I		0,9577	-0,4430	0,8376
ED de EGS		-0,0605	-0,6425	-0,3863
EI de EGS	PV	1,5394	3,9593	3,1806
EI de EGS	MUS	-0,7648	-4,9583	-2,6261
EI de EGS	AOL	0,1297	1,3236	0,5745
Total: D + I		0,8438	-0,3180	0,7427
R <sup>2</sup>		0,9915	0,5815	0,8602

ED: efeito direto; EI: efeito indireto;

Não houve interação entre os grupos de peso e os períodos de coletas para as excreções de creatinina, derivados de purina, uréia e compostos nitrogenados totais obtidas a intervalos de quatro horas e para as relações uréia:creatinina (U:C), nitrogênio total:creatinina (NT:C) e derivados de purina:creatinina (DP:C). Entretanto, houve efeito ( $P < 0,05$ ) do peso dos animais para a excreção diária de creatinina expressa em g ou em mmol/kg PC<sup>0,75</sup>, conforme Tabela 7. Quando expressa em mg/kg PC não houve diferença ( $P > 0,05$ ) entre os grupos e, quando expressa em mmol/kg PC<sup>0,75</sup>, o grupo de peso baixo apresentou excreção menor ( $P < 0,05$ ) que os demais.

A excreção média diária de creatinina encontrada nesse estudo a partir de períodos de 4 horas de coleta de urina foi de 0,91 mmol/Kg PC<sup>0,75</sup> com intervalo de confiança de  $IC(\mu)_{0,95} = [0,88 \leq \mu \leq 0,94]$ . Este resultado encontra-se dentro do observado em coletas de 24 horas, que foi de 0,95 mmol/kg PC<sup>0,75</sup> com  $IC(\mu)_{0,95} = [0,89 \leq \mu \leq 1,02]$ .

As médias para as excreções de purinas totais durante 4 horas para os grupos de animais são apresentadas na Tabela 7 em g, mg/kg PC, e mmol/kg PC<sup>0,75</sup>. Houve diferença ( $P < 0,05$ ) na excreção de derivados de purina em todas as unidades. Quando expressa em g, os grupos de animais de maior peso foram os que excretaram mais DP e entre os grupos alto voluntário e alto restrito não houve diferença ( $P > 0,05$ ). As excreções de uréia e compostos nitrogenados totais, expressas em g, foram maiores ( $P < 0,05$ ) para os animais de maior peso (alto voluntário e alto restrito) em relação aos demais.

Tabela 7 – Médias, probabilidades (P) e erros-padrão da média (EPM) obtidas para as excreções em 4 horas de creatinina, derivados de purina, uréia, compostos nitrogenados totais e relações uréia:creatinina (U:C), compostos nitrogenados totais:creatinina (NT:C), derivados de purina:creatinina (DP:C) para os quatro grupos de peso

Variáveis	Grupos				P	EPM
	Baixo	Médio	Alto voluntário	Alto restrito		
<b>Creatinina</b>						
g	0,55 <sup>c</sup>	0,97 <sup>b</sup>	1,77 <sup>a</sup>	1,76 <sup>a</sup>	0,0001	0,0633
mg/kg PC	4,36	4,37	4,03	4,10	0,0867	0,1063
mmol/kg PC <sup>0,75</sup>	0,13 <sup>b</sup>	0,15 <sup>a</sup>	0,16 <sup>a</sup>	0,16 <sup>a</sup>	0,0002	0,0042
<b>Derivados de Purina</b>						
g	2,04 <sup>c</sup>	2,82 <sup>b</sup>	4,01 <sup>a</sup>	3,68 <sup>a</sup>	0,0001	0,1087
mg/kg PC	16,33 <sup>a</sup>	12,78 <sup>b</sup>	9,16 <sup>c</sup>	8,62 <sup>c</sup>	0,0001	0,7705
mmol/kg PC <sup>0,75</sup>	0,34 <sup>a</sup>	0,31 <sup>ab</sup>	0,26 <sup>bc</sup>	0,24 <sup>c</sup>	0,0009	0,0131
mmol/dia	95,63 <sup>b</sup>	136,35 <sup>a</sup>	145,75 <sup>a</sup>	123,35 <sup>ab</sup>	0,0078	8,6495
<b>Uréia</b>						
g	4,36 <sup>b</sup>	6,33 <sup>b</sup>	15,50 <sup>a</sup>	13,83 <sup>a</sup>	0,0001	0,8743
mg/kg PC	34,14	28,44	35,49	32,00	0,0931	1,7685
mmol/kg PC <sup>0,75</sup>	1,90 <sup>b</sup>	1,83 <sup>b</sup>	2,70 <sup>a</sup>	2,43 <sup>ab</sup>	0,0024	0,1372
<b>Compostos Nitrogenados Totais</b>						
g	3,71 <sup>b</sup>	5,56 <sup>b</sup>	11,66 <sup>a</sup>	10,03 <sup>a</sup>	0,0001	0,5458
mg/kg PC	28,89	25,23	26,67	23,29	0,0990	1,4947
mg/kg PC <sup>0,75</sup>	97,01 <sup>a</sup>	97,15 <sup>a</sup>	121,92 <sup>a</sup>	106,03 <sup>a</sup>	0,0464	6,1841
<b>Relações</b>						
U:C <sup>1</sup>	7,83	7,68	8,82	7,54	0,2200	0,4518
NT:C <sup>1</sup>	6,97	6,81	6,71	5,47	0,1396	0,4719
DP:C <sup>2</sup>	2,72 <sup>a</sup>	2,50 <sup>a</sup>	1,61 <sup>b</sup>	1,39 <sup>b</sup>	0,0008	0,4133

<sup>1</sup> - Relações calculadas a partir da concentração em mg/L.

<sup>2</sup> - Relações calculadas a partir da concentração em mmol/L.

a, b, c - Médias seguidas de letras diferentes, na linha, diferem pelo teste de Tukey-kramer a 5% de probabilidade.

Na Tabela 8 pode-se visualizar que não houve efeito ( $P>0,05$ ) de períodos de coleta (00h00-04h00, 04h00-08h00, 08h00-12h00, 12h00-16h00, 16h00-20h00, 20h00-00h00 horas) sobre a excreção de creatinina, expressa em g, mg/kg PC e mmol/kg PC<sup>0,75</sup>. Essa ausência de diferença também foi observada por Fleming et al. (1991), que avaliaram coletas de 6, 12, 18 e 24 horas em vacas adultas pesando entre 427 e 622 kg. Em uma pesquisa com tempos de coleta de 6, 9, 12, 15, 18, 21 e 24 horas, Chizzotti et al. (2008) também não encontraram diferença na excreção de creatinina expressa em mmol/24h, mmol/h, mmol/kg PC, mmol/kg PC<sup>0,75</sup>, encontrando médias de 131,3; 5,45; 0,208 e 1,04, respectivamente.

A ausência do efeito do tempo de coleta sobre a excreção diária de creatinina está de acordo com observações descritas por Valadares et al. (1997), que não encontraram diferenças nas excreções de creatinina obtidas durante 12, 24, 48 ou 72 horas de coleta e recomendaram a utilização da coleta total de 24 horas para determinar a excreção urinária diária.

Desse modo, a excreção diária de creatinina sendo constante permite que a coleta de 4 horas seja representativa do período de 24 horas.

Em geral, as médias das excreções de uréia e de compostos nitrogenados totais foram maiores no período de 08h00-12h00, sendo durante a noite observadas médias mais baixas ( $P<0,05$ ), como pode ser observado na Tabela 8. A excreção de uréia está diretamente relacionada à ingestão de compostos nitrogenados e o metabolismo protéico. Entretanto, para uma mesma dieta, a excreção de uréia apresenta oscilações em função do tempo, após a ingestão de alimento, o que inviabiliza a obtenção de urina em um único tempo de coleta de 4 horas. Já a excreção de derivados de purina não foi afetada pelo tempo ( $P>0,05$ ), viabilizando a obtenção de coleta de urina em qualquer período de 4 horas durante o dia.

Barbosa et al. (2006) encontraram valor de 70,57 mmol/dia para a excreção de purinas totais em novilhas e, quando os resultados foram analisados em função dos dias de coleta (1 a 6), não houve diferença significativa na excreção ( $P>0,05$ ).

A relação DP:C não diferiu ( $P>0,05$ ) em função dos tempos de coleta, confirmando o resultado obtido por Chen et al (1995), que agruparam as amostras horárias em seis períodos de 4 horas e não obtiveram diferenças entre as relações das concentrações de DP:C no tempo.

Tabela 8 – Médias, probabilidades (P) e erros-padrão da média (EPM) para as excreções de creatinina (C), derivados de purinas (DP), uréia (U), compostos nitrogenados totais (NT) e para as relações U:C, NT:C, DP:C, obtidas a partir de coletas de urina com períodos de 4 horas

Variáveis	Período (horas)						P	EPM
	00-04	04-08	08-12	12-16	16-20	20-00		
<b>Creatinina</b>								
g	1,29	1,23	1,31	1,27	1,24	1,22	0,1430	0,0403
mg/kg PC	4,30	4,12	4,35	4,28	4,14	4,10	0,1802	0,0939
mmol/kg PC <sup>0,75</sup>	0,155	0,148	0,157	0,154	0,149	0,147	0,1469	0,0035
<b>Derivados de Purina</b>								
g	2,95	3,07	3,29	3,12	3,26	3,11	0,1242	0,1008
mg/kg PC	11,14	11,50	12,49	11,63	12,02	11,55	0,1257	0,5008
mmol/kg PC <sup>0,75</sup>	0,27	0,28	0,31	0,29	0,30	0,29	0,1102	0,0101
mmol/dia	118,98	119,97	132,92	133,76	126,17	119,82	0,4329	7,5715
<b>Uréia</b>								
g	8,51 <sup>b</sup>	9,96 <sup>ab</sup>	12,40 <sup>a</sup>	10,45 <sup>ab</sup>	8,89 <sup>b</sup>	9,82 <sup>ab</sup>	0,0014	0,7307
mg/kg PC	27,69 <sup>b</sup>	31,02 <sup>b</sup>	40,14 <sup>a</sup>	34,73 <sup>ab</sup>	29,10 <sup>b</sup>	32,44 <sup>b</sup>	0,0001	1,7888
mmol/kg PC <sup>0,75</sup>	1,88 <sup>b</sup>	2,14 <sup>ab</sup>	2,74 <sup>a</sup>	2,35 <sup>ab</sup>	1,98 <sup>b</sup>	2,19 <sup>b</sup>	0,0001	0,1304
<b>Compostos nitrogenados totais</b>								
g	6,73	7,65	8,73	8,26	7,53	7,54	0,0545	0,4946
mg/kg PC	22,74 <sup>b</sup>	24,39 <sup>ab</sup>	29,57 <sup>a</sup>	28,73 <sup>a</sup>	25,07 <sup>ab</sup>	25,60 <sup>ab</sup>	0,0075	1,4764
mg/kg PC <sup>0,75</sup>	92,06 <sup>b</sup>	100,43 <sup>ab</sup>	119,70 <sup>a</sup>	115,47 <sup>ab</sup>	101,97 <sup>ab</sup>	103,53 <sup>ab</sup>	0,0120	6,0313
<b>Relações</b>								
U:C <sup>1</sup>	6,44 <sup>c</sup>	6,84 <sup>c</sup>	9,67 <sup>ab</sup>	9,88 <sup>a</sup>	7,01 <sup>c</sup>	7,95 <sup>bc</sup>	0,0001	0,4503
NT:C <sup>1</sup>	5,18 <sup>b</sup>	6,15 <sup>ab</sup>	7,41 <sup>a</sup>	7,70 <sup>a</sup>	6,04 <sup>ab</sup>	6,43 <sup>ab</sup>	0,0056	0,5011
DP:C <sup>2</sup>	1,99	2,01	2,21	2,15	1,99	1,97	0,5443	0,1403

<sup>1</sup> - Relações calculadas a partir da concentração em mg/L.

<sup>2</sup> - Relações calculadas a partir da concentração em mmol/L.

<sup>a, b, c</sup> - Médias seguidas de letras diferentes, na linha, diferem pelo teste de Tukey-kramer a 5% de probabilidade.

Não houve interação ( $P>0,05$ ) entre grupos de animais e tempos de coletas para as relações uréia:creatinina, compostos nitrogenados totais:creatinina, derivados de purina:creatinina e derivados de purina:compostos nitrogenados totais e para a excreção de derivados de purina obtidas a partir das amostras *spot*. Na Tabela 9, estão apresentadas essas relações para os quatro grupos de animais.

A análise estatística indicou diferenças significativas ( $P<0,05$ ) nas relações DP:NT e DP:C, sendo maiores as relações nos animais de menor peso corporal. Para as relações U:C e NT:C não foram detectadas diferenças ( $P>0,05$ ) entre as faixas de peso.

Tabela 9 – Médias, probabilidades (P) e erros-padrão da média (EPM) obtidas para as relações uréia:creatinina (U:C), compostos nitrogenados totais:creatinina (NT:C), derivados de purina:creatinina (DP:C), derivados de purina: compostos nitrogenados totais (DP:NT), e excreção de derivados de purina (DP) a partir de amostras *spot* para os grupos de animais

Variáveis	Grupos de animais				P	EPM
	Baixo	Médio	Alto	Alto restrito voluntário		
U:C <sup>1</sup>	8,00	8,15	7,87	7,18	0,5027	0,4733
NT:C <sup>1</sup>	6,93 <sup>a</sup>	7,31 <sup>a</sup>	6,15 <sup>a</sup>	5,48 <sup>a</sup>	0,0497	0,4262
DP:C <sup>2</sup>	2,79 <sup>a</sup>	2,57 <sup>a</sup>	1,51 <sup>b</sup>	1,38 <sup>b</sup>	0,0001	0,1491
DP:NT <sup>1</sup>	0,58 <sup>a</sup>	0,50 <sup>a</sup>	0,35 <sup>b</sup>	0,35 <sup>b</sup>	0,0001	0,0241
DP <sup>3</sup>	100,24 <sup>b</sup>	139,88 <sup>a</sup>	137,34 <sup>a</sup>	122,59 <sup>ab</sup>	0,0342	8,9965

<sup>1</sup> - Relações calculadas a partir da concentração em mg/L.

<sup>2</sup> - Relações calculadas a partir da concentração em mmol/L.

<sup>3</sup> - Excreção de DP em mmol/dia.

<sup>a, b</sup> - Médias seguidas de letras diferentes, na linha, diferem pelo teste de Tukey-Kramer a 5% de probabilidade.

As relações uréia:creatinina (U:C), compostos nitrogenados totais:creatinina (NT:C), derivados de purina:creatinina (DP:C), derivados de purina: compostos nitrogenados totais (DP:NT) e a excreção de DP (mmol/dia) obtidas nos tempos de coleta estão mostradas na Tabela 10. Apenas as relações U:C e NT:C diferiram ( $P < 0,05$ ) entre as coletas a intervalos de 2 horas. Considerando que a relação DP:C não variou ( $P > 0,05$ ) entre os 12 horários de coleta avaliados, sugere-se que a amostra *spot* de urina, obtida em qualquer horário, estime adequadamente a produção de compostos nitrogenados microbianos.

Chen et al. (1995), em estudo para verificar a variação diurna das relações entre as concentrações de creatinina e DP em ovinos submetidos a diferentes frequências de alimentação, não observaram diferenças nos tratamentos e tempos de amostragens e concluíram que uma amostra de urina coletada em qualquer horário do dia (*spot*) poderia ser utilizada para a estimativa da excreção diária de DP na urina.



Tabela 10 – Médias, probabilidades (P) e erros-padrão da média (EPM) obtidas para as relações uréia:creatinina (U:C), compostos nitrogenados totais:creatinina (NT:C), derivados de purina:compostos nitrogenados totais (DP:NT), derivados de purina:creatinina (DP:C) e da excreção de derivados de purina (DP) obtidas a partir de amostras *spot* de urina

Hora	Variáveis				
	U:C <sup>1</sup>	NT:C <sup>1</sup>	DP:NT <sup>1</sup>	DP:C <sup>2</sup>	DP <sup>3</sup>
02h00	6,65 <sup>c</sup>	5,98 <sup>b</sup>	0,47 <sup>a</sup>	2,01	121,38
04h00	6,87 <sup>c</sup>	5,99 <sup>b</sup>	0,46 <sup>a</sup>	1,97	119,03
06h00	6,90 <sup>c</sup>	5,97 <sup>b</sup>	0,47 <sup>a</sup>	2,03	120,71
08h00	7,18 <sup>c</sup>	6,06 <sup>b</sup>	0,46 <sup>a</sup>	1,97	119,90
10h00	9,39 <sup>a</sup>	7,27 <sup>a</sup>	0,42 <sup>a</sup>	2,11	128,57
12h00	9,39 <sup>a</sup>	6,97 <sup>a</sup>	0,43 <sup>a</sup>	2,11	129,34
14h00	8,57 <sup>a</sup>	6,84 <sup>a</sup>	0,42 <sup>a</sup>	2,06	126,17
16h00	8,07 <sup>b</sup>	6,71 <sup>a</sup>	0,46 <sup>a</sup>	2,17	129,73
18h00	7,44 <sup>b</sup>	6,42 <sup>b</sup>	0,45 <sup>a</sup>	2,09	126,37
20h00	7,45 <sup>b</sup>	6,62 <sup>a</sup>	0,43 <sup>a</sup>	2,07	124,66
22h00	7,91 <sup>b</sup>	6,53 <sup>a</sup>	0,44 <sup>a</sup>	2,09	127,60
24h00	7,76 <sup>b</sup>	6,28 <sup>b</sup>	0,46 <sup>a</sup>	2,08	126,64
P	0,0001	0,0001	0,0338	0,3419	0,2443
EPM	0,3174	0,2573	0,0179	0,0916	5,5364

<sup>1</sup> - Relações calculadas a partir da concentração em mg/L.

<sup>2</sup> - Relações calculadas a partir da concentração em mmol/L.

<sup>3</sup> - Excreção de DP em mmol/dia.

a, b, c - Médias seguidas de letras diferentes, na coluna, diferem pelo critério de Scott-knott a 5% de probabilidade.

Esses mesmos autores, no mesmo trabalho, relataram que a relação média de DP:C (em relação ao peso metabólico) obtida de amostra *spot* de urina foi altamente correlacionada ( $r = 0,92$ ) com a excreção diária de DP (mmol/dia). Entretanto, fixaram o valor da excreção de creatinina de  $466 \mu\text{mol/kg PC}^{0,75}$  (CV = 12,4%) para ser usada para animais de diferentes pesos.

Chizzotti et al. (2008), avaliando a excreção de creatinina em diferentes intervalos de tempos de coleta de urina (6, 9, 12, 15, 18, 21, 24 horas) concluíram que não houve diferença na excreção de creatinina durante o período diurno e noturno, com uma média de 5,45 mmol/h ou 1,07 mmol/kg PC<sup>0,75</sup> em 24 horas.

Rennó et al. (2008) verificaram diferença ( $P < 0,05$ ) para os volumes urinários obtidos a partir da coleta de urina em 24 horas e estimados pela coleta *spot* de urina ( $P < 0,01$ ). Contudo, essa diferença de volume entre coletas não interferiu nas estimativas das excreções, o que permitiu aos autores concluir que a coleta *spot* de urina estimou satisfatoriamente as excreções urinárias dos derivados de purina.

Valadares et al. (1999) e Silva et al. (2001) não obtiveram diferenças entre os volumes urinários estimados pela amostra *spot*, baseado na excreção de creatinina e obtidos pela coleta total de urina. Oliveira et al. (2001), comparando o volume urinário e a excreção de DP obtidos em coleta total de urina durante 24 horas e os estimados, utilizando a concentração de creatinina em amostra *spot*, não observaram diferença significativa. Portanto, amostra *spot* de urina pode estimar satisfatoriamente a excreção de derivados de purina e, subsequentemente a produção de N microbiano.

A variabilidade temporal das relações U:C e NT:C, observada na Tabela 10, assumiu comportamento tipicamente não-linear, com taxas de elevação e queda diferenciadas em função do tempo. Além disso, observa-se um comportamento dessas variáveis de acordo com o padrão da alimentação animal em condições experimentais.

A avaliação desses resultados pela série de Fourier, como mostram as Figuras 4 e 5, projeta o comportamento das relações para qualquer momento do ciclo de avaliação. Em adição, a versatilidade de ajustamento das séries de Fourier, além de propiciar valores cíclicos relevantes do ponto de vista biológico, confere padrões de interpretação adicionais, como as estimativas dos períodos fundamentais (Detmann et al., 2007).

As ilustrações dos períodos fundamentais das relações U:C e NT:C nas Figuras 4 e 5, respectivamente, mostram que a função assume dois pontos diários próximos à média de  $7,767 \pm 0,096$  para a relação U:C e  $6,42 \pm 0,090$  para a relação NT:C. Na Figura 4, o primeiro ponto diário do período fundamental com aproximação inferior foi às 07h57min e o segundo, com aproximação superior, foi às 16h26min. Na Figura 5, o primeiro ponto diário do período fundamental com aproximação inferior foi às 08h14min e o segundo, com aproximação superior, foi às 16h48min. Foi obtido o período fundamental da relação U:C de, aproximadamente, 12h18min; e para a relação NT:C esse foi de 11h18min.

Observa-se que em ambas as situações, o primeiro valor pontual do período fundamental foi aproximadamente à primeira alimentação (08h00) e o segundo foi aproximadamente à segunda alimentação (16h00). Isso sugere que se pode recomendar a coleta *spot* de urina para estimar as excreções de compostos nitrogenados logo após as alimentações, considerando uma situação prática com fornecimento das dietas diariamente às 08h00 e 16h00.

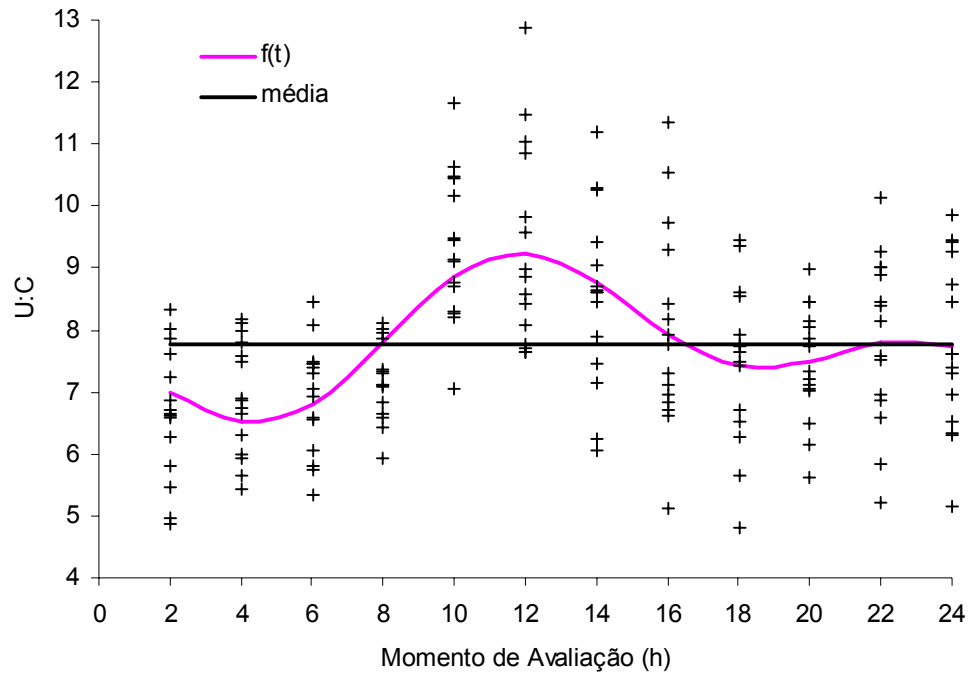


Figura 4 - Função  $f(t)$  ajustada para a relação uréia:creatinina (U:C) de acordo com o momento de avaliação (horário); DPA=1,228.

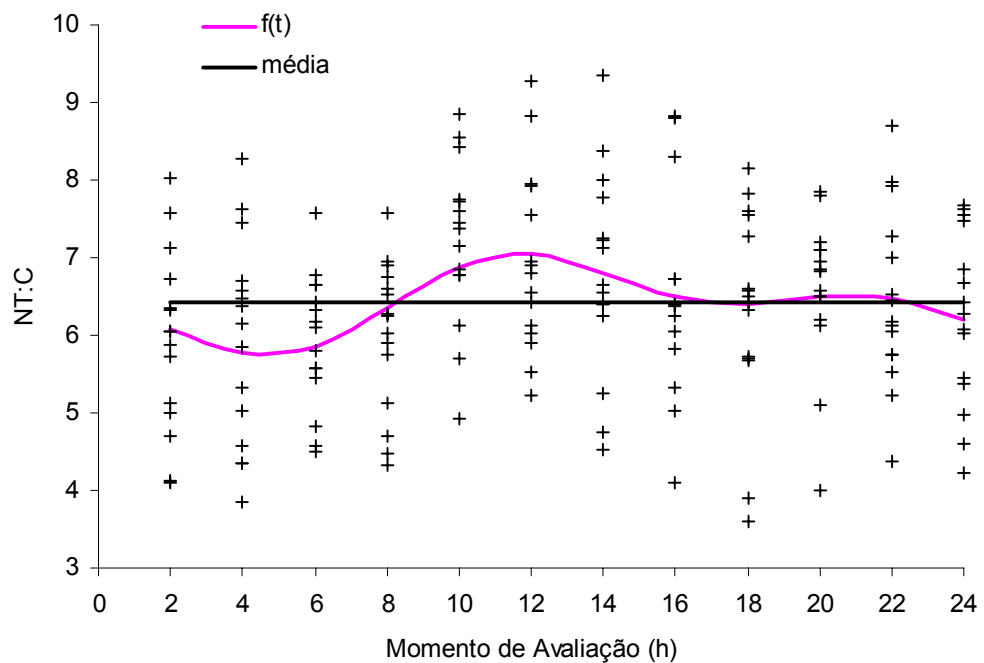


Figura 5 - Função  $f(t)$  ajustada para a relação nitrogênio total:creatinina (NT:C) de acordo com o momento de avaliação (horário); DPA=1,133.

## CONCLUSÕES

Para estimar a excreção de creatinina, o peso corporal foi o principal determinante, sendo que a utilização de outras variáveis, músculo, área de olho de lombo e espessura de gordura subcutânea não foi suficiente para melhorar os resultados encontrados. A excreção média de creatinina encontrada nesse estudo foi de 26,35 mg/kg PC ou 0,95 mmol/kg PC<sup>0,75</sup>.

A ausência do efeito da hora de coleta sobre a relação derivados de purina:creatinina tem uma grande aplicação prática, indicando que pode-se usar a amostra *spot* de urina para calcular a excreção de DP em qualquer horário do dia. Além disso, mostra também que estimativas de volumes pontuais não influenciam a excreção de DP ou a produção microbiana.

Podem-se recomendar duas coletas *spot* de urina, às 8h00 ou às 16h00 ou imediatamente após o fornecimento das dietas, para estimar as excreções de compostos nitrogenados.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- BARBOSA, A.M.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. C. et al. 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.
- CHEN, X.B., MEJIA, A.T., KYLE, D.J. et al. 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.
- CHIZZOTTI, M.L, VALADARES FILHO, S.C., VALADARES, R.F.D. et al. Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. **Livestock Science**, v.113, p.218-225, 2008.
- DETMANN, E., CECON, P.R., PAULINO, M.F. et al. Variáveis ruminais avaliadas por meio de funções matemáticas contínuas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.11, p.1651-1657, 2007.
- 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; ORSKOV, 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.
- HARPER, H.A.; RODWELL, V.W.; MAYES, P.A. **Manual de química fisiológica**. 5.ed. São Paulo: Atheneu, 1982. 736p.
- KAPS, M.; LAMBERSON, W.R. Biostatistics of animal science. Cambrigde: Cabi Publishing, 2004. 445p.
- LEAL, T.L., VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Variações diárias nas excreções de creatinina e derivados de purinas em novilhas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.905-911, 2007.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requeriments of dairy cattle**. 7. ed. Washington, D. C: Natinal Academic Press, 2001. 381p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Predicting feed intake of food-producing animals**. Washington, D. C: Natinal Academic Press, 1987. 96p.

- 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 isoprotéicas contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não-protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1621-1629, 2001.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F. et al. Níveis de uréia na ração de novilhos de quatro grupos genéticos: parâmetros ruminais, uréia plasmática e excreções de uréia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.3, p.556-562, 2008.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Concentração plasmática de uréia e excreções de uréia e creatinina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.1235-1243, 2000.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. *Análise de alimentos – métodos químicos e biológicos*. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, 2002.
- 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.
- 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.
- VALADARES, R.F.D.; BRODERICK, S.C.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Effect of replacing alfafa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.12, p.2686-2696, 1999.
- VAN NIEKERKE, B.D.H.; REID, J.T.; BENSADOUN, A. et al. Urinary creatinine as an index of body composition. **The Journal of Nutrition**. v.79, n.63, p.463-473, 1963.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B. **Analysis of forages and fibrous foods**. Ithaca: Cornell University, 1985, 202p.