



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

FRANCISCA DEBORA DA SILVA FERREIRA

**AVALIAÇÃO DA TÉCNICA DE COLETA SPOT DE URINA E SÍNTESE
MICROBIANA RUMINAL ATRAVÉS DA CREATININA, EM OVINOS EM
CRESCIMENTO**

FORTALEZA

2023

FRANCISCA DEBORA DA SILVA FERREIRA

AVALIAÇÃO DA TÉCNICA DE COLETA SPOT DE URINA E SÍNTESE
MICROBIANA RUMINAL ATRAVÉS DA CREATININA, EM OVINOS EM
CRESCIMENTO

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação Integrado em Zootecnia como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia. Área de concentração: Zootecnia. Linha de pesquisa: Nutrição e Produção de ruminantes.

Orientadora: Prof. Dra. Lays Débora Silva Mariz

Coorientadora: Prof. Dra. Patrícia Guimarães Pimentel

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F441a Ferreira, Francisca Debora da Silva.

Avaliação da técnica de coleta spot de urina e síntese microbiana ruminal através da creatinina, em ovinos em crescimento / Francisca Debora da Silva Ferreira. – 2023.

43 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Fortaleza, 2023.

Orientação: Profa. Dra. Lays Débora Silva Mariz.

Coorientação: Prof. Dr. Patrícia Guimarães Pimentel.

1. Derivados de purina. 2. Metabolismo proteico. 3. Santa Inês. I. Título.

CDD 636.08

FRANCISCA DEBORA DA SILVA FERREIRA

AVALIAÇÃO DA TÉCNICA DE COLETA SPOT DE URINA E SÍNTESE
MICROBIANA RUMINAL ATRAVÉS DA CREATININA, EM OVINOS EM
CRESCIMENTO

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação Integrado em Zootecnia como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia. Área de concentração: Zootecnia. Linha de pesquisa: Nutrição e Produção de ruminantes.

Aprovada em: 13/07/2023

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Lays Debora Silva Mariz (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Stefanie Alvarenga Santos
Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Prof. Dr. Jarbas Miguel da Silva Júnior
Universidade de Brasília (UnB)

A Deus, agradeço por tudo. Aos meus pais e amigos, grata.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e por todas as bênçãos.

Aos meus pais, Dalva e José, pelo incentivo e confiança para que eu fosse em busca de uma formação profissional em outra cidade e por todos esforços, incentivos, compreensão, sendo estes a minha base e me ajudando com todos os desafios e vivências diárias.

Ao meu irmão, Anderson que é um exemplo de responsabilidade em minha vida e sempre esteve ao meu lado quando eu necessitei.

Ao meu avô, Francisco que me proporcionou muitas alegrias em minha vida, sendo sempre uma fonte de muito amor e carinho.

A minha orientadora, profa. Lays Debora da Silva Mariz, pela sua importante colaboração na orientação, trazendo riquíssimas colocações para este presente trabalho e também pela confiança que a mesma teve em mim por ter sido bolsista de mestrado desse projeto.

Aos meus colegas da UFC, Alonso, Vitória, Sabrina, Ster, Ana Jullya, Milena, Marcos, Savio, Pamela, Silvio, Helen, Marina, Breno e Alex, por todo o apoio e compromisso durante a execução do projeto.

Aos meus amigos, Marina, Rayssa, Isabela, Bruno, Mirelio, Gleyson João José e Evandra por todas colaborações diretas e indiretas na minha vida acadêmica.

Ao programa de Pós-Graduação Integrado em Zootecnia (PGIZ), pela possibilidade da realização do curso de mestrado em Zootecnia, contribuindo com a estrutura física, corpo docente e a todos os funcionários que trabalham na instituição.

A Universidade Federal da Bahia (UFBA), pela disponibilidade em uso do laboratório de nutrição animal (LANA), e minhas Gisele, Elza, Ana Julia e Roberta, pelas colaborações durante as análises laboratoriais.

Aos Professores membros da banca examinadora, Stefanie Alvarenga, Jarbas Miguel.

Aos professores do PGIZ, por todos os ensinamentos ministrados durante o curso de pós-graduação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

Deus, tu me dás o teu escudo de livramento;
a tua ajuda me fez forte (Neemias 9:3)

RESUMO

O objetivo deste estudo é estabelecer um protocolo para validar a metodologia de coleta *spot* para estimar a excreção de nitrogênio, síntese de proteína microbiana, bem como os fatores que influenciam a excreção de creatinina e derivados de purinas de ovinos em crescimento. Foram utilizados 15 ovinos da raça Santa Inês, machos, inteiros, com peso corporal (PC) variando de 14,0 a 30,9 kg \pm 5,32. Os animais foram alimentados com feno de capim-tifton 85 e concentrado, composto por milho moído, farelo de soja e mistura mineral, na proporção 60:40, respectivamente. Foram realizadas as análises de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), Fibra em detergente neutro (FNDcp), carboidratos não-fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT), para a determinação do consumo, digestibilidade, balanço de nitrogênio, proteína bruta microbiana (PBmic), e eficiência microbiana. Foram realizadas as coletas totais de urina (24 horas), durante o período de cinco dias consecutivos e as coletas pontuais (*spot*), que foram obtidas durante dois dias consecutivos horários de: 00:00, 04:00, 08:00, 12:00, 16:00 e 20:00 horas. A creatinina, ácido úrico e N-ureia. Os derivados de purina (DP) e as relações: Derivados de Purina:Creatinina (DP:C) e Ureia:Creatinina (U:C). Foram verificadas a correlação do CMS e dos nutrientes com o PC ($r=0,94$). A creatinina (mg/dia) teve correlação linear positiva com o PC ($Y=0,0362x+10,271$), e com o peso de carcaça fria (PCF) ($Y=0,0146x + 8,3627$) com os coeficientes de $r^2=0,55$ e $r^2=0,61$, respectivamente. As excreções de DP mmol/d, foram verificados coeficientes $r^2=0,55$ e $r^2=0,53$ em relação ao PC ($Y = 2,1485x + 2,6913$) PCF ($Y= 0,8309x + 5,6455$). Nas amostragens da urina *spot*, foi obtido resultados nos intervalos de confiança ($P < 0,01$), nas coletas realizadas nos horários de 0, 4 e 12 horas para a excreção de creatinina (mg/L), 12 e 20 horas, para a relação DP:C (mg/L) e 8 e 16 horas para a U:C (mg/L). A creatinina apresentou correlação moderada (0,56) com relação ao PC e com PCF (0,61). A excreção de creatinina variou de 11,03 a 23,24 (mg/Kg). O período de quatro horas após a alimentação indicado para realizar coletas *spot* de urina para estimar síntese microbiana em ovinos crescimento.

Palavras – chave: derivados de purina; metabolismo proteico; Santa Inês.

ABSTRACT

The aim of this study is to establish a protocol to validate the spot collection methodology to estimate nitrogen excretion, microbial protein synthesis, as well as the factors that influence the excretion of creatinine and purine derivatives in growing sheep. Fifteen Santa Inês sheep, male, intact, with body weight (BW) ranging from 14.0 to 30.9 kg \pm 5.32 were used. The animals were fed with Tifton 85 grass hay and concentrate, composed of ground corn, soybean meal and mineral mixture, in the proportion 60:40, respectively. Analyzes of dry matter (DM), organic matter (OM), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDFcp), non-fiber carbohydrates (NFC) and total digestible nutrients (TDN) were performed to determine the intake, digestibility, nitrogen balance, microbial crude protein (MCP), and microbial efficiency. Total urine collections (24 hours) were performed during the period of five consecutive days and punctual collections (spot), which were obtained during two consecutive days: 00:00, 04:00, 08:00, 12 :00, 4:00 pm and 8:00 pm. Creatinine, uric acid and N-urea. Purine Derivatives (DP) and Ratios: Purine Derivatives:Creatinine (DP:C) and Urea:Creatinine (U:C). The correlation of DMI and nutrients with BW ($r^2= 0.87$) was verified. Creatinine (mg/day) had a positive linear correlation with BW ($Y=0.0362x+10.271$), and with cold carcass weight (CCW) ($Y=0.0146x + 8.3627$) with the coefficients of $r^2=0.55$ and $r^2=0.61$, respectively. The excretions of DP mmol/d, coefficients $r^2=0.55$ and $r^2=0.53$ were verified in relation to BW ($Y = 2.1485x + 2.6913$) CCW ($Y= 0.8309x + 5.6455$). In spot urine samples, results were obtained in confidence intervals ($P < 0.01$), in collections carried out at 0, 4 and 12 hours for creatinine excretion (mg/L), 12 and 20 hours, for the DP:C ratio (mg/L) and 8 and 16 hours for the U:C (mg/L). Creatinine showed a moderate correlation (0.56) with BW and CCW (0.61). Creatinine excretion ranged from 11.03 to 23.24 (mg/Kg). The period of four hours after feeding indicated to perform spot urine collections to estimate microbial synthesis in growing sheep.

Keywords: protein metabolism; purine derivatives; Santa Inês.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Correlação do consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes com o peso corporal, de ovinos em crescimento	22
Figura 2 - Coeficientes de correlação entre as excreções de derivados de purina e os consumos de MS e nutrientes, peso de carcaça fria e peso de músculo de ovinos em crescimento	24
Figura 3 - Relação entre a excreção de total de derivados de purinas (mmol/dia) e o peso corporal (kg)	25
Figura 4 - Correlação da excreção de creatinina em relação ao consumo de nutrientes, peso de carcaça fria e peso de músculo, de ovinos em crescimento	26
Figura 5 - Correlação da creatinina (mg/kg) com o consumo de matéria seca (KgPC)	27
Figura 6 - Relação entre a excreção de creatinina urinária (mg/dia) com o peso corporal (Kg).....	28
Figura 7 - Coeficientes de correlação entre as excreções de derivados de purina a síntese e eficiência de proteína microbiana de ovinos em crescimento	30
Figura 8 - Flutuação das excreções de creatinina (mg/L) em função dos tempos de coletas, a cada quatro horas de ovinos em crescimento	31
Figura 9 - Perfil Nictemeral da razão entre derivados de purina creatinina (DP:C) (mg/L) em função dos tempos de coletas, a cada quatro horas, de ovinos em crescimento	32
Figura 10 - Perfil Nictemeral da razão entre ureia e creatinina (U:C) (mg/L) em função dos tempos de coletas, a cada quatro horas, de ovinos em crescimento	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição bromatológica do feno de capim - tifton, concentrado e dieta	17
Tabela 2 – Consumo e digestibilidade aparente de ovinos em crescimento	21
Tabela 3 - Excreção urinária de derivados de purina, creatinina e ureia mensurados pela coleta total de urina (24 horas) em ovinos em crescimento	23
Tabela 4 - Parâmetros estimados para regressão linear da excreção de derivados de purinas em função do consumo de matéria seca, consumo de matéria orgânica, peso corporal, peso de carcaça fria e peso de músculos de ovinos em crescimento	25
Tabela 5 - Parâmetros estimados para regressão linear da excreção de creatinina em função do consumo de matéria seca, consumo de matéria orgânica, peso corporal, peso de carcaça fria e peso de músculos de ovinos em crescimento	27
Tabela 6 - Balanço de nitrogênio, síntese e eficiência de proteína bruta microbiana, de ovinos em crescimento	29
Tabela 7 - Efeito dos horários de coletas spots de urina sobre a excreção de creatinina, relação derivados purina:creatinina (DP:C) e ureia:creatinina (U:C), ovinos em crescimento	31

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO DE LITERATURA	12
3	MATERIAL E MÉTODOS	16
4	RESULTADOS	21
4.1	Consumo e digestibilidade aparente	22
4.2	Excreção de derivados de purinas, creatinina e ureia	22
4.3	Balanço de nitrogênio, síntese e eficiência de proteína microbiana	28
4.4	Efeito dos pesos corporais em coletas pontais de urina (spot), nas excreções de creatinina e nas relações DP:C e U:C	30
5	DISCUSSÃO	33
6	CONCLUSÕES	37
	REFERÊNCIAS	38

1. INTRODUÇÃO

O uso da metodologia de quantificação de derivados de purinas (DP) é utilizado nos estudos da nutrição protéica, para a estimativa de síntese de proteína microbiana em animais ruminantes (PBmic) (PEREZ *et al.*, 1996). Contudo, para a sua determinação é necessário que haja uma coleta total de urina, com duração de cinco dias (CHEN; GOMES, 1995), que em situações experimentais, é vista como algo laborioso.

Como alternativa a coleta total, é proposta a coleta pontual de urina (*Spot*), na qual consiste em coletas pontuais de urina, que irá estimar a quantidade total de metabólitos excretados durante um período de 24 horas (VALADARES *et al.*, 1999). Esse método utiliza a concentração de creatinina (C) como indicador da excreção diária de urina a partir da avaliação da sua concentração em amostras pontuais, relacionada com o peso corporal do animal (CHIZZOTTI *et al.*, 2008).

As excreções de creatinina são relativamente constantes, não sendo influenciada por fatores extra renais, como a alimentação (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008), assim como a ausência de variação em relação ao aporte de N da dieta (SILVA JUNIOR *et al.*, 2018). Estudos apontam que a proporção de DP:C em amostras pontuais de urina foi altamente correlacionada com a excreção de DP indicando que essa proporção pode ser usada como alternativa a excreção diária de DP para estimar a produção da proteína microbiana (RENNÓ *et al.* 2000; SILVA *et al.*, 2001).

No Brasil, esta metodologia é bem estabelecida em bovinos (BARBOSA *et al.*, 2011; CHIZZOTTI *et al.*, 2008; GEORGE *et al.*, 2006; SILVA JÚNIOR *et al.*, 2018). No entanto, para caprinos e ovinos os estudos ainda são incipientes. Estudos realizados por Santos *et al.* (2017) com cabras leiteiras e Santos *et al.* (2018) com ovinos e caprinos, encontraram pontos de coletas representativos a coleta total, 4 e 3 horas após a alimentação, respectivamente.

Portanto, surge a necessidade validar os métodos de coletas *spot* em ovinos considerando a fase de crescimento dos animais, que irá influenciar nas variações das excreções diárias da creatinina, assim como na produção dos compostos nitrogenados que podem ser atribuídas em relação a amplitude de peso corporal. Com isso, o objetivo deste estudo é estabelecer um protocolo para validar a metodologia de coleta pontual para estimar a excreção de nitrogênio, síntese de proteína microbiana, bem como os fatores que influenciam a excreção de creatinina e derivados de purinas de ovinos em crescimento.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Ao abordar aspectos limitantes da produção, os custos com a alimentação dos animais correspondem a cerca de 70% da atividade (MATSUDA, 2013). Diante disso, destaca-se a necessidade de uma dieta mais precisa, que vise o aumento da produtividade nos animais, associado ao melhor aproveitamento dos nutrientes no organismo.

Na nutrição proteica de animais ruminantes alguns princípios básicos devem ser atendidos. Primeiramente deve-se ser considerado as quantidades mínimas de proteína degradada no rúmen (PDR), para a utilização pelos microrganismos ruminais para seu crescimento e metabolismo celular, e em seguida atender os requisitos de proteína não degradável no rúmen (PNDR) para contribuir com o aporte de aminoácidos essenciais para as funções de basais, crescimento, reprodução e respostas imunológicas para o animal (DAS *et al.*, 2014).

A proteína microbiana (PBmic) é proveniente da atividade fermentativa da microbiota ruminal, onde o nitrogênio (N) disponível no rúmen e/ou os aminoácidos e peptídeos oriundos da degradação extracelular dos alimentos, são incorporados à massa microbiana formando a PBmic, na qual constitui a principal fonte de proteína metabolizável que chega ao intestino delgado destes animais ruminantes (KOZLOSKI, 2017; RUSSEL *et al.*, 1992).

O aumento da eficiência da PBmic torna-se importante na nutrição de ruminantes, objetivando o aumento da eficiência produtiva destes, tendo em vista que em média 50% dos aminoácidos que chegam ao intestino delgado são de origem microbiana (AFRC, 1992). Dessa forma, o entendimento de utilização de N pelos animais é necessário para alinhamento das exigências nutricionais, de forma a evitar excessos e déficits que comprometem o sistema produtivo.

A deficiência de N da dieta causa um retardamento no crescimento e desenvolvimento da microbiota ruminal, que implicará na digestibilidade dos componentes da parede celular, reduzindo o consumo dos nutrientes e o aproveitamento destes no desempenho dos animais (SALES; PAULINO; VALADARES FILHO, 2008). Já o excesso de N fornecido, é absorvido através do epitélio da parede do rúmen na forma de amônia e capturado da corrente sanguínea para o fígado, na qual é sintetizada em ureia pelo ciclo metabólico da ornitina-ureia (MILANO; LOBLEY, 2001). Após esse processo de desintoxicação hepática a ureia pode retornar ao rúmen pelo processo de reciclagem, ou excretado via urina (SIMMONS *et al.*, 2009).

Existem alguns métodos nos quais são utilizados para estimar a síntese de PBmic em ruminantes, dentre estão a utilização de marcadores microbianos, como o ácido 2,6

diaminopimélico (DAPA), e marcadores externos como isótopos de enxofre (^{35}S) e nitrogênio (^{15}N), onde a utilização dessas metodologias necessitam que os animais sejam submetidos a intervenções cirúrgicas (BRODERICK; MERCHEN, 1992). Devido estes métodos serem considerados invasivos, caros e não levam em consideração o bem-estar dos animais, o método que atualmente é aplicado com constância para estimar a PBmic é através da utilização da excreção urinária dos derivados de purinas (DP) (TAS; SUSENBETH, 2007). Rennó *et al.* (2000), ao avaliarem a produção de Pmic em bovinos fistulados, não observaram diferença significativa na quantificação das purinas avaliadas pelo abomaso via cânula ou pela excreção urinária.

A aplicação do método de DP tem como princípio que os ácidos nucleicos (DNA e RNA) que chegam ao duodeno são essencialmente de origem microbiana, de forma que os ácidos nucleicos provenientes dos alimentos destinados aos ruminantes são extensivamente degradados durante o processo fermentativo no rúmen (CHEN; GOMES, 1992).

Após a digestão intestinal dos nucleotídeos, estes são quebrados na ligação entre monossacarídeo e as bases nitrogenadas, originando as purinas (adenina e guanina), nas quais podem ser degradadas ou diretamente absorvidas, metabolizadas e excretadas na urina como DP (alantoína, xantina, hipoxantina e ácido úrico) (PEREZ *et al.*, 1996). Os ácidos nucleicos são expostos à ação das enzimas guanina deaminase, adenosina deaminase e xantina oxidase, sintetizando o ácido úrico, a partir da xantina e hipoxantina, que posteriormente pode ser oxidado pela enzima uricase em alantoína (FUJIHARA; SHEM, 2011). Em detrimento disso, as concentrações plasmáticas de xantina e hipoxantina em bovinos são menores do que em ovinos e caprinos, onde a xantina oxidase tem baixa atividade, fazendo com que haja excreções urinárias além de alantoína (60 a 80%) de ácido úrico (10 a 30%) e de xantina e hipoxantina (5 a 10%) (KOZLOSKI, 2017).

Para o estabelecimento de uma adequada relação existente entre N-purinas: N-total, deve levar em consideração a contribuição da porção endógena, que são derivadas do metabolismo dos ácidos nucleicos dos tecidos dos animais, sendo corrigidas através desse aporte existente (VERBIC *et al.*, 1990).

Contudo, para a quantificação desses metabólitos urinários é necessário que seja realizada uma amostragem da urina coletada em um período de 24 horas, mostrando-se como um método comumente utilizado e eficiente (BARBOSA *et al.*, 2006; LEAL *et al.*, 2007; VALADARES *et al.*, 1999). Chen e Gomes (1995), relataram que a coleta total de urina deve ser realizada no mínimo por um período de 5 dias com o intuito de minimizar erros experimentais, embora de acordo com Fleming, Hunt e Riviere (1991) e Valadares *et al.* (1997)

descreveram que a coleta em período de 24 horas, seria suficiente para representar o perfil de excreção dos metabólitos urinários em bovinos. No entanto, a coleta total de urina é considerada uma técnica laboriosa e de difícil execução em animais manejados em regime de pastejo, necessitando da utilização destes de forma confinada, além gerar desconforto aos animais devido a presença de funis coletores por longos períodos de tempo (CHIZZOTTI *et al.*, 2008; LIU *et al.*, 2006).

Dessa forma, com o objetivo de aumentar o bem-estar dos animais e diminuir erros experimentais decorrentes em metodologias de longos períodos, foi proposto o método de coleta pontual (*spot*), que consiste na obtenção de uma amostra pontual de urina durante um período de 24 horas (SILVA JÚNIOR *et al.*, 2018). A coleta *spot* relaciona a excreção urinária de creatinina e dos DP em sua concentração na urina, onde será utilizada para estimar o volume total de urina e determinar a PBmic, descartando a coleta total (VAGNONI *et al.*, 1997; VALADARES *et al.*, 1999). Santos *et al.* (2018), retratam que uma coleta pontual após o período de alimentação de 3 horas dos animais é representativa, quanto a coleta total.

Após a produção, a creatina é conduzida para o tecido muscular, onde irá reagir com uma molécula de adenosina trifosfato (ATP), formando a fosfocreatina, com o auxílio da enzima creatina quinase, sendo utilizada como estoque de energia para os músculos (HARPER; RODWELL; MAYES, 1977). Quando ocorre a quebra da molécula de fosfocreatina, ocorre um processo irreversível de perda de água, liberando a molécula de creatinina, que será excretada na urina (HEYMSFIELD *et al.*, 1983).

Em bovinos a utilização da creatinina como marcador para a estimativa da produção do volume urinário já é validado (CHIZZOTTI *et al.*, 2008; VALADARES *et al.*, 1999), no entanto para ovinos e caprinos os estudos ainda são incipientes, principalmente para os ovinos criados em condições tropicais.

É retratado que existe uma relação entre a concentração dos derivados de purina com a creatinina (DP:C) sendo relativamente constante ao longo do dia, constatando que a proporção de creatinina excretada pode ser utilizada como um indicador da excreção do volume total de urina dos animais (RENNÓ *et al.*, 2000; SILVA *et al.*, 2001). Conforme descrevem Chen e Gomes (1995), para que a relação DP:C seja validada, assume-se que este vínculo seja constante ao longo do dia e que a excreção de creatinina seja constante e independente do suprimento de energia e nitrogênio que o animal ingere. A síntese diária de creatina, e sua subsequente excreção na forma de creatinina é dependente da massa muscular, sendo relacionada proporcionalmente ao peso dos animais (SUSMEL *et al.*, 1994).

Embora a literatura retrate a quantificação da creatinina de forma linear ao peso corporal (CAMPENEERE *et al.*, 2000; VAN NIEKERK *et al.*, 1963). O crescimento é definido como o aumento do tamanho corporal ou peso corporal, quando se considera determinado período na vida do animal (PATIÑO; VAN CLEEF, 2010). Com isso ocorre uma variação nas proporções desses tecidos ao longo da vida do animal, sendo o desenvolvimento do tecido muscular mais acentuado em animais na fase de crescimento e sua redução quando ele atinge o período de terminação, tendo o acréscimo de tecido adiposo (NRC, 1985).

Por conta disso, assume que animais que apresentem pesos corporais semelhantes podem ter distintas proporções nos tecidos muscular e adiposo podem excretar diferentes quantidades de creatinina por unidade de peso vivo (CHEN; JAYASURIYA; MAKKAR, 2004). Levando em consideração que a creatinina é metabólito associado a atividade muscular, e que essa deposição se comporta de forma linear durante o desenvolvimento corporal dos animais, a forma mais indicada para analisar usar excreção é através da análise de excreção da creatinina em função da massa muscular dos animais.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Animais e dietas

Todos os procedimentos com os animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Ceará (CEUA-UFC), protocolo número 3011202101. O experimento foi conduzido no setor de digestibilidade do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, situado no Município de Fortaleza - CE, Brasil.

Foram utilizados 15 ovinos da raça Santa Inês, machos, inteiros, com peso corporal inicial variando de 14,0 a 30,9 kg como amostras aleatórias simples, nos quais houve dois momentos de coletas, totalizando 30 amostras. Inicialmente, os animais foram submetidos à um período de adaptação de 15 dias, nos quais foram acondicionados a dieta e as instalações e submetidos a práticas de profiláticas de vacinação (clostridioses), vermifugação (Ivermectina) e administração do complexo vitamínico ADE, assim como sua identificação por intermédio de brincos numéricos. Posteriormente, foram pesados e alocados aleatoriamente em gaiolas de ensaio metabólico individuais (1,10 m x 0,72m) providas de comedouros e bebedouros.

Foi utilizada uma dieta isonitrogenada (17% de proteína bruta PB) para todos os animais, constituída de 60% de feno de capim Tifton 85 e 40% de concentrado com base na matéria seca (MS) (Tabela 1). O concentrado foi constituído por milho grão moído, farelo de soja e mistura mineral, dieta foi fornecida às 8h00 e 16h00 em proporções similares. O consumo foi ajustado para manter no máximo as sobras em 10% da quantidade oferecida, e a água foi disponibilizada diariamente com consumo à vontade.

Tabela 1 - Composição bromatológica do feno de capim - tifton, concentrado e dieta

Nutriente (g/kg/MS)	Feno de capim tifton 85	Concentrado	Dieta
Matérias seca ¹	801,5	870,0	828,9
Matéria Orgânica	924,9	936,8	929,66
Proteína Bruta	136,10	234,90	175,62
Extrato etéreo	18,0	39,0	26,4
FDN _{cp} ²	634,70	124,20	430,5
Carboidratos não-fibrosos	136,1	538,7	297,14
FDN _i ³	229,8	34,6	151,72

¹g/Kg de matéria natural

²Fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína

³Fibra em detergente neutro indigestível

Procedimentos experimentais e coletas

Todas as amostras de feno e sobras de cada animal foram coletadas diariamente e posteriormente armazenadas em forma de compostas semanais a -20°C. Ao final de cada semana, estas amostras foram submetidas à secagem parcial (55°C) em estufa de ventilação forçada por 72 horas. Após a secagem, as amostras foram moídas em moinho de facas (Wiley mill; TECNAL, São Paulo, SP, Brasil) com peneiras de 2 mm e 1 mm e compostas por animal. Os ingredientes do concentrado foram amostrados diretamente nos silos da fábrica nos dias das misturas dos mesmos. As amostras foram agrupadas em compostas a cada coleta semanal. Estas amostras foram armazenadas para posteriores análises laboratoriais.

O período experimental foi composto de 84 dias, nos quais foram realizadas coletas de urina e fezes dentre o 20° ao 27° e do 48° ao 55° dias do experimento, respectivamente. Todos os ovinos foram pesados no início de cada coleta após um período de jejum de 16 horas.

Do 20° ao 24° e do 48° ao 52° dia do experimento foi realizada a coleta total de urina (24 horas) nos animais. Foram utilizados funis coletores acoplados aos animais que eram conectados às mangueiras, nos quais conduziam a urina até recipientes plásticos contendo 100 mL de H₂SO₄ a 20%, para a conservação do nitrogênio (N). Ao final de cada dia de coleta, o volume urinário diário foi quantificado (ml) e uma alíquota de 10% do volume total foi amostrada e armazenada (-20 °C). Ao final dos cinco dias consecutivos de coleta total, foi obtida uma amostra composta de cada animal, em cada ciclo de coletas.

Do 23° ao 25° e do 50° ao 52° dia do experimento foram realizadas as coletas pontuais de urina (*spot*), sendo estas realizadas nos horários: 00:00, 04:00, 08:00, 16:00 e 20 horas, durante dois dias. Em cada dia, uma alíquota de 10 mL de cada amostra de urina foi filtrada em gaze e diluída em 40 ml de H₂SO₄ 0,036N, para a conservação e posterior análise dos derivados de purina, creatinina e ureia (Valadares *et al.*, 1999), e outra alíquota de 40 ml foi retirada para a quantificação do N da amostra. Posteriormente às coletas, foram obtidas uma amostra composta por horário de coleta (00:00, 04:00, 08:00, 12:00, 16:00 e 20:00 horas) para cada animal, referente aos dois dias de amostragem, obtendo-se assim seis amostras de urina de cada animal, totalizando em 12 amostras por animal no final do experimento. Após a obtenção destas amostras, foram imediatamente armazenadas à -20°C para posteriores análises.

Do 25° ao 27° dia e do 53 ao 55° dia do experimento foram realizadas as coletas pontuais de fezes para avaliação da digestibilidade aparente. As coletas foram realizadas nos seguintes horários: D1 (12:00 e 18:00 horas); D2 (10:00 e 16:00 horas); e D3 (8:00 e 14:00 horas). Cada amostra foi submetida à secagem parcial (55 °C por 72 h) e moídas em moinho Wiley (TE-648, TECNAL, Piracicaba, Brasil) para as análises de FDNi e demais análises bromatológicas a 2 e 1 mm, respectivamente. Ao final dos três dias consecutivos, as amostras de fezes foram compostas para cada animal proporcionalmente o peso seco de todas as seis amostras.

Ao final do experimento todos os animais foram submetidos ao abate precedido de jejum de 16 horas com livre acesso à água e previamente pesados. Posteriormente, logo após o abate foram realizadas as pesagens para obtenção do peso de carcaça fria (PCF). As carcaças foram seccionadas em duas meias-carcaças, sendo a porção esquerda dissecadas em músculo, gordura e ossos, para estimação das proporções destes componentes na carcaça em relação ao peso de carcaça fria, objetivando a avaliação do PCF e musculo em função da excreção de creatinina.

Análises laboratoriais

As amostras de alimentos, sobras e fezes foram direcionadas às análises de MS e cinzas de acordo com o método oficial 934.01 e 942.05 (AOAC, 2005), respectivamente. A matéria orgânica (MO) foi quantificada pela diferença do teor da MS e de cinzas. O nitrogênio (N) total foi quantificado de acordo com o método oficial 968.06 (AOAC, 2005) tanto nas amostras citadas como nas amostras concentradas de urina dos animais. O teor de extrato etéreo (EE) foi quantificado pelo método de Soxhlet após a extração com hexano, conforme o método 920.39 (AOAC, 2005). Para a análise da concentração da fibra em detergente neutro corrigida

para cinzas e proteína (FDNcp), as amostras foram tratadas com α -amilase termoestável (MERTENS, 2002), e corrigidas para os resíduos de cinzas e N residual.

A quantificação dos carboidratos não fibrosos (CNF) foi obtida conforme descrito por Detmann e Valadares Filho (2010), sendo $CNF = 100 - (\%PB + \%FDNcp + \%EE + \%MM)$ em que: FDNcp = fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína. Os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram calculados de acordo com Weiss (1993): $NDT = PBd + CNFd + FDNcpd + EEd \times 2,25$, onde PBd é a proteína bruta digestível, CNFd é o carboidrato não fibroso digestível, FDNcpd é a fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteínas digestíveis e EEd é o extrato etéreo digestível.

Para estimar a excreção fecal total, foi utilizada a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) como indicador interno, de acordo com as recomendações de Valente *et al.* (2015).

Nas amostras de urina, a creatinina foi quantificada pelo método enzimático a partir da reação com picrato alcalino, utilizando-se kit comercial (Creatinina - Labtest, Salvador, Brasil). O ácido úrico foi obtido por método enzimático em uricase e peroxidase, utilizando-se o kit comercial (Ácido úrico monoreagente - Labteste, Salvador, Brasil) em espectrofotômetro de UV. A ureia foi quantificada em amostras de urina por método enzimático na presença de salicilato e hipoclorito de sódio, utilizando-se o kit comercial (Ureia enzimática -Labtest, Salvador, Brasil). Alantoína, xantina e hipoxantina foram determinadas por colorimetria conforme metodologia descrita por Chen e Gomes (1992).

As purinas microbianas absorvidas (X, mmol/dia) foram calculadas em função da excreção de derivados de purinas na urina (Y, mmol/dia), por intermédio da equação:

$$Y = 0,84X + (0,150 PV^{0,75} e^{-0,25X})$$

Em que: 0,84 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados urinários de purinas e 0,150 PV^{0,75}, a contribuição endógena para a excreção de purinas (VERBIC *et al.*, 1990).

O fluxo intestinal de compostos nitrogenados (N) microbianos (g N/dia) foi calculado em função das purinas microbianas absorvidas (X, mmol/dia), utilizando-se a equação:

$$Y = X \text{ (mmol/dia)} \times 70 / 0,83 \times 0,116 \times 1000,$$

Onde: 70 representa o conteúdo de nitrogênio nas purinas (70 mg N/mmol de purinas), 0,83, é a digestibilidade intestinal das purinas microbianas, e 0,116, é a relação N purina:Ntotal na massa microbiana (CHEN; GOMES, 1992).

Análises estatísticas

A estatística descritiva foi analisada por intermédio do PROC MEANS do SAS (versão 9.4). Os intervalos de confiança dos dados referentes as concentrações de creatinina, e as relações DP:C e U:C obtidas em coleta spot foram determinados através do PROC TEST do SAS (versão 9.4).

As correções lineares de Pearson foram ajustadas e plotadas graficamente utilizando o pacote Library (corrplot) do software R, utilizando a interface R Studio (versão 2023.06.0).

4. RESULTADOS

4.1 Consumo e digestibilidade aparente

O consumo de MS MO e NDT (kg/dia) variou de 0,69 a 1,33, 0,64 a 1,23 e 0,41 à 0,88, respectivamente.

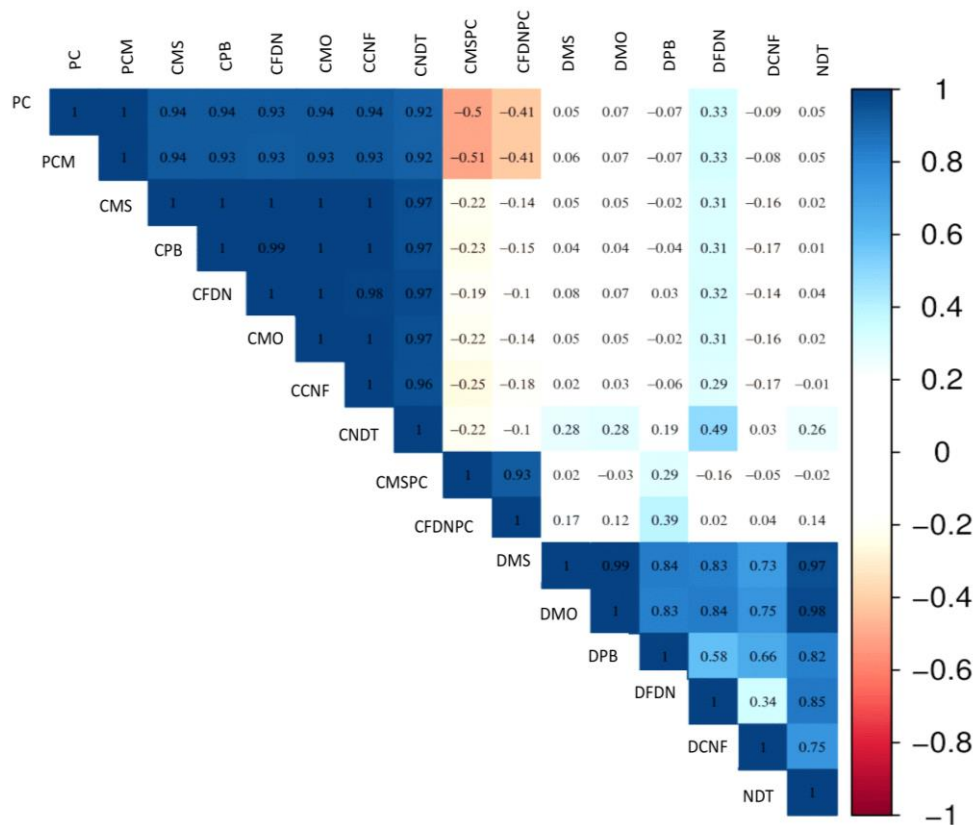
Tabela 2 – Consumo e digestibilidade aparente de ovinos em crescimento

Variável	N	Médio	Mínimo	Máximo	DP ⁴	CV ⁵
Peso (kg)	30	26,32	16,6	34,4	5,32	20,21
				Consumo (kg)		
Matéria seca	30	1,02	0,69	1,33	0,18	18,14
Matéria Orgânica	30	0,94	0,64	1,23	0,17	18,14
Proteína Bruta	30	0,19	0,13	0,24	0,03	17,56
FDNcp ¹	30	0,40	0,26	0,54	0,08	19,37
Carboidratos não fibrosos	30	0,33	0,23	0,41	0,05	17,21
Nutrientes digestíveis totais	30	0,66	0,41	0,88	0,12	18,67
				Consumo (g/kg de PC) ²		
Matéria Seca	30	38,61	30,14	43,69	3,16	8,17
FDNcp ¹	30	15,32	11,42	17,87	1,47	9,62
				Digestibilidade aparente (g/kg) ³		
Matéria seca	30	663	581	740	35,48	5,35
Matéria Orgânica	30	670	592	743	34,11	5,09
Proteína Bruta	30	735	652	805	35,62	4,84
FDNcp ¹	30	556	448	637	49,59	8,91
Carboidratos não fibrosos	30	764	697	835	34,77	4,55
Nutrientes digestíveis totais	30	643	586	708	30,90	4,80

¹Fibra em detergente neutro cp = Fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteínas; ²Consumo (g/kg de PC) = Consumo em gramas por quilogramas de peso corporal; ³Digestibilidade aparente (g/kg) = Digestibilidade em gramas por quilogramas; ⁴DP= Desvio padrão; ⁵Coefficiente de variação.

Foram verificadas altas correlações entre o PC dos animais e consumo MS, MO, PB (r = 0,94) e NDT (r= 0,92) (Figura 1). Os valores de coeficiente de digestibilidade aparente se comportaram de forma independente com relação as variações corporais dos ovinos.

Figura 1 - Correlação do consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes com o peso corporal, de ovinos em crescimento.



4.2 Excreção de derivados de purinas, creatinina e ureia

Para ovinos em crescimento (peso variando de 16,6 a 34,4 kg) foram obtidos os valores mínimos e máximos de excreções de DP expressos em mmol/dia de 7,71 a 14,97, respectivamente (Tabela 2). Os valores de creatinina (mg) expressos em relação ao PC variaram de 11,03 a 23,24. As excreções diárias de ureia na urina variaram de 2,02 a 7,25 g/dia.

Tabela 3 - Excreção urinária de derivados de purina, creatinina e ureia mensurados pela coleta total de urina (24 horas) em ovinos em crescimento

Variável	Médio	Mínimo	Máximo	DP ⁴	CV ⁵
Peso (kg)	26,32	16,6	34,4	5,32	20,21
Derivados de purinas (mmol/dia)					
Alantoína mmol/dia	8,66	6,08	12,23	1,54	17,82
Ácido Úrico, mmol/dia	1,43	1,08	1,84	0,19	13,34
X+Hipox, mmol/dia ¹	0,89	0,56	1,34	0,19	21,28
DP totais, mmol/dia ²	10,97	7,71	14,97	1,84	16,77
DP totais, mmol/ kg PC	0,39	0,30	0,49	0,05	13,49
DP totais, mmol/ kg PC ^{0,75}	0,89	0,73	1,10	0,01	11,21
Creatinina					
mg/d	443,61	203,02	664,79	109,91	24,78
mg/kg PC	15,35	11,03	23,24	2,64	17,23
mmol/kg PC ^{0,75}	0,31	0,17	0,48	0,06	20,03
Ureia					
g/d	4,56	2,02	7,25	2,04	45,65
mg/kg PC	180,09	77,40	335,80	84,06	0,47
mg/ kg PC ^{0,75}	402,24	223,70	775,90	180,88	0,45

¹X+Hipox = Xantina e hipoxantina; ²DP = Derivados de purina; ⁴DP= Desvio padrão; ⁵Coeficiente de variação.

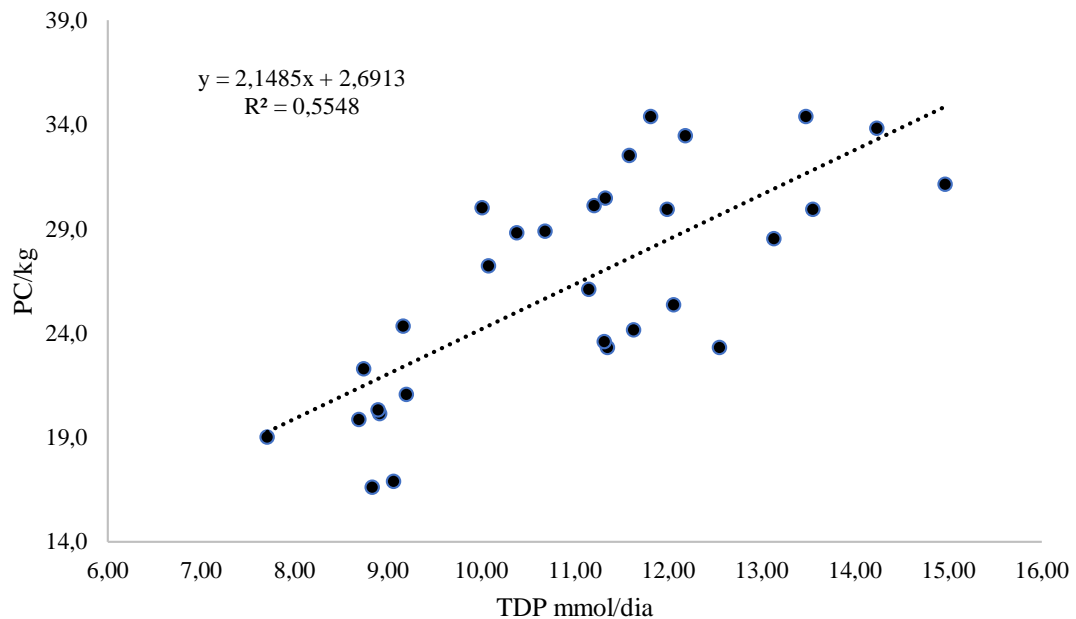
Houve alta correlações entre DP (mmol/d) e o peso corporal dos animais ($r = 0,74$) e PCF ($r = 0,73$) (Figura 2). A equação de regressão obtida através destas correlações foram de: $DP = 2,1485 PC + 2,6913$ ($r^2=0,55$) e $DP = 0,8309 PCF + 5,6455$ ($r^2=0,56$) (Tabela 3, figura 3).

Tabela 4 - Parâmetros estimados para regressão linear da excreção de derivados de purinas em função do consumo de matéria seca, consumo de matéria orgânica digestível, peso corporal, peso de carcaça fria e peso de músculos de ovinos em crescimento

Derivados de purinas	Equações	R ²
	Consumo de matéria seca (g/kgPC)	
(mmol/kg) ¹	$Y = 15,782x + 32,515$	0,07
	Consumo de matéria orgânica digestível (g/kgPC)	
(mmol/kg)	$y = 41,972x + 171,65$	0,42
	Peso corporal (kg)	
(mmol/dia) ²	$Y = 2,1485x + 2,6913$	0,55
	Peso de carcaça fria (kg)	
(mmol/dia)	$Y = 0,8309x + 5,6455$	0,56
	Peso de músculo (kg)	
(mmol/dia)	$Y = 0,3368x + 4,4175$	0,33

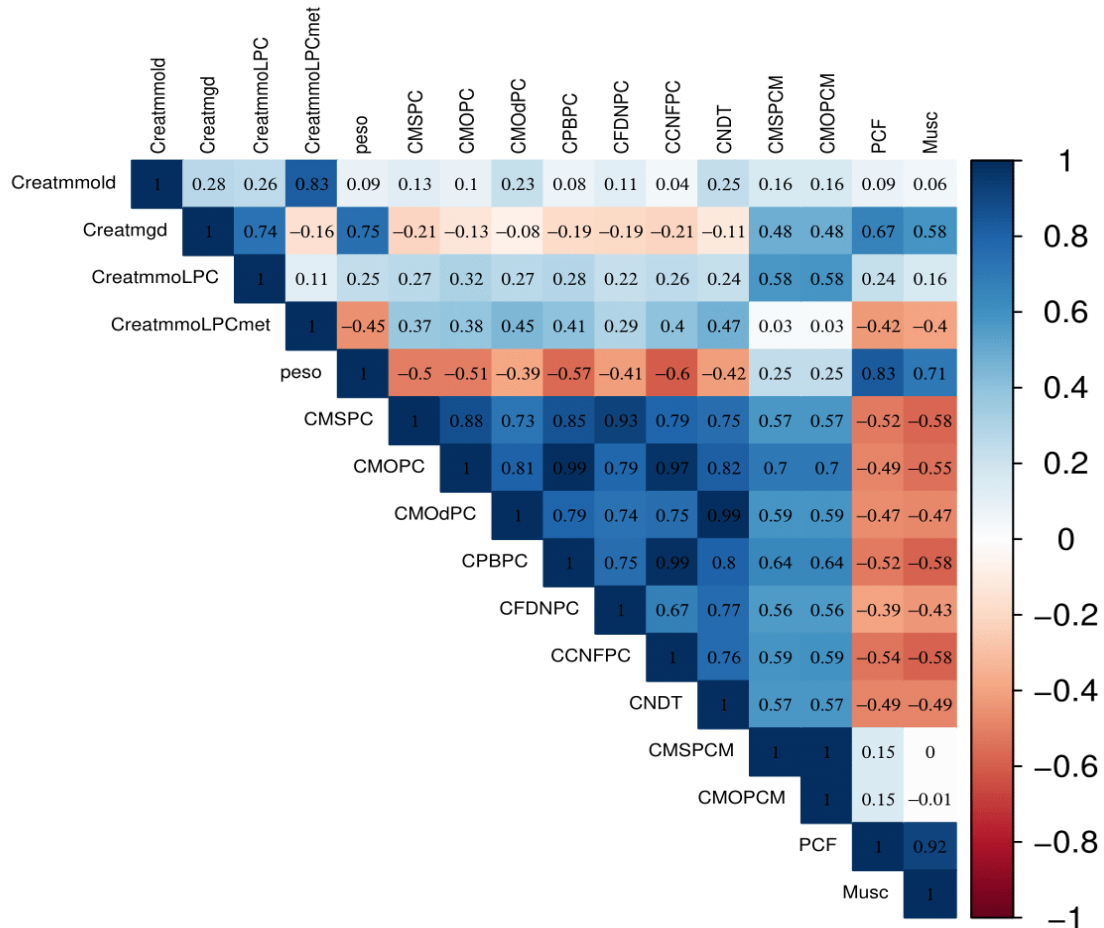
¹Derivados de purina (mmol/kg) = Derivados de purinas em miligramas por quilograma; ²Derivados de purinas (mmol/dia) = Creatinina em miligramas por dia.

Figura 3 - Relação entre a excreção de total de derivados de purinas (mmol/dia) e o peso corporal (kg)



Foram obtidas correlações entre as excreções de creatinina (mg/dia) com o PC ($r = 0.75$), PCF ($r=0,67$) e peso de músculo ($r = 0,58$) (Figura 4).

Figura 4 - Correlação da excreção de creatinina em relação ao consumo de nutrientes, peso de carcaça fria e peso de músculo, de ovinos em crescimento



As equações de regressão linear entre as excreções de creatinina e o PC foi: $Y=0,0362x+10,271$ ($r^2 = 0,56$) e em relação ao PCF: $Y=0,0146x + 8,3627$ ($r^2=0,61$) (Tabela 4)

Nas figuras 4 e 5 estão dispostas as correlações lineares entre o consumo de matéria seca (KgPC) com a creatinina em (mg/kg) e peso corporal (kg) com a creatinina em (mg/dia), respectivamente. As excreções de creatinina não apresentaram correlação com o CMS/kgPC ($r^2=0,08$).

Tabela 5 - Parâmetros estimados para regressão linear da excreção de creatinina em função do consumo de matéria seca, consumo de matéria orgânica, peso corporal, peso de carcaça fria e peso de músculos de ovinos em crescimento

Creatinina	Equações	R ²
	Consumo de matéria seca (g/kgPC)	
(mg/kg) ¹	$Y = 0,3329x + 33,5$	0,08
	Consumo de matéria orgânica digestível (g/kgPC)	
(mg/kg)	$Y = 0,4554x + 32,109$	0,01
	Peso corporal (kg)	
(mg/dia) ²	$Y = 0,0362x + 10,271$	0,56
	Peso de carcaça fria (kg)	
(mg/dia)	$Y = 0,0146x + 8,3627$	0,61
	Peso de músculo (kg)	
(mg/dia)	$Y = 0,0068x + 5,114$	0,50

¹Creatinina (mg/kg) = Creatinina em miligramas por quilograma; ²Creatinina (mg/dia) = Creatinina em miligramas por dia.

Figura 5 - Correlação da creatinina (mg/kg) com o consumo de matéria seca (kgPC)

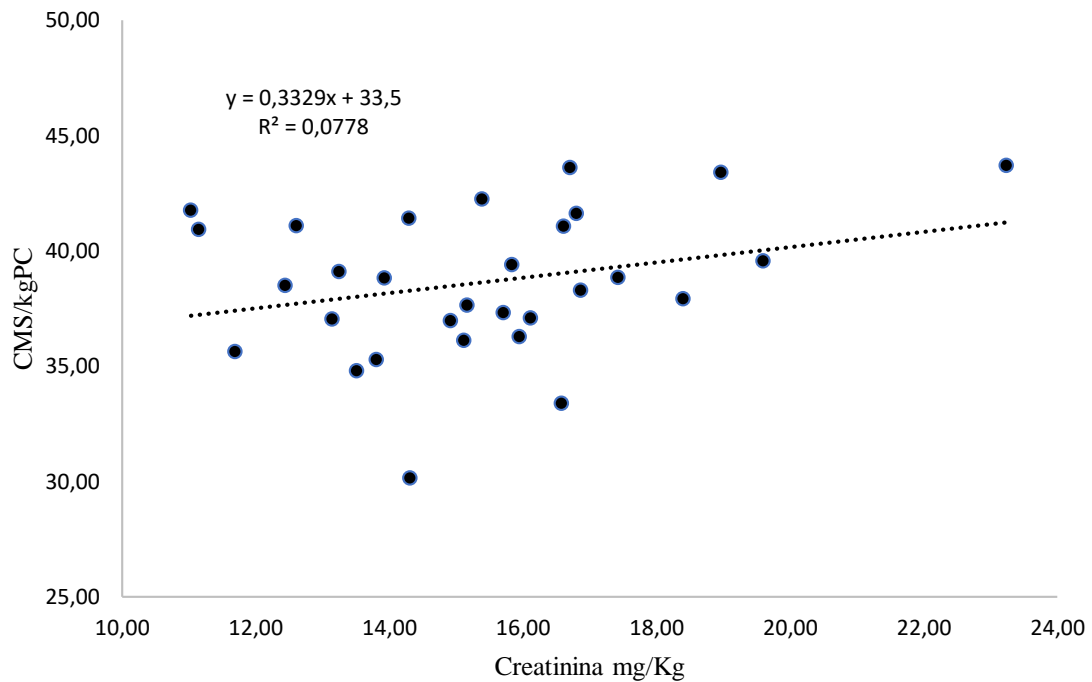
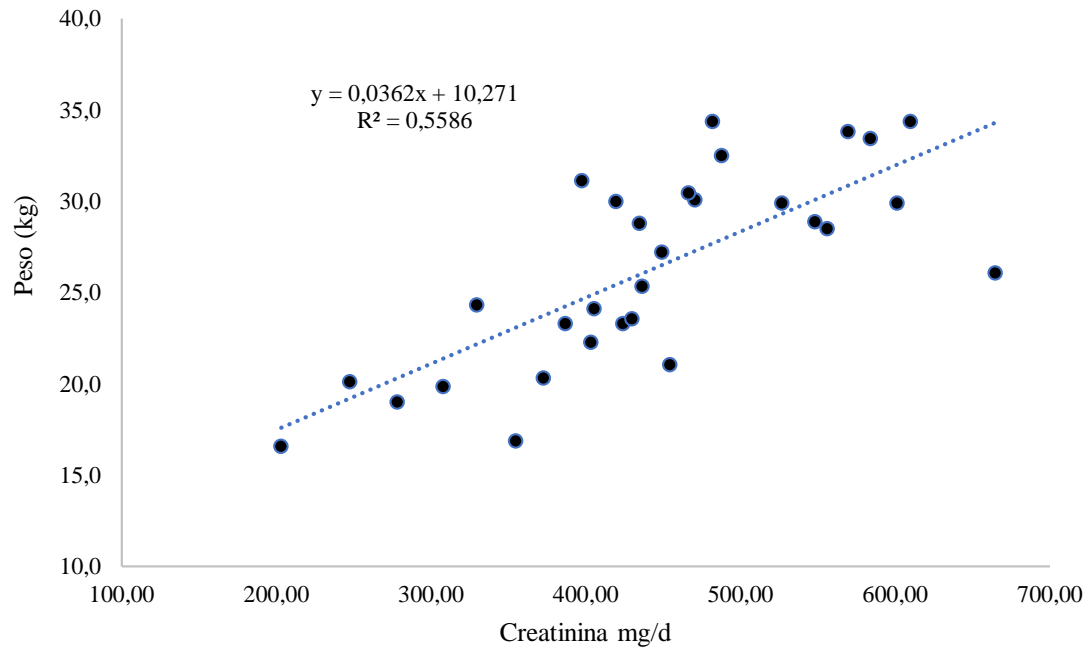


Figura 6 - Relação entre a excreção de creatinina urinária (mg/dia) com o peso corporal (kg)



4.3 Balanço de nitrogênio, síntese e eficiência de proteína microbiana

Os valores obtidos para a síntese de proteína microbiana variaram de 30,44 a 57,37 g/dia (Tabela 6) para ovinos de diferentes fases de crescimento. A eficiência de síntese microbiana expressa em relação ao consumo de MO digestível variou de 48,39 a 87,52, e de 50,98 e 91,32 em relação ao consumo de NDT.

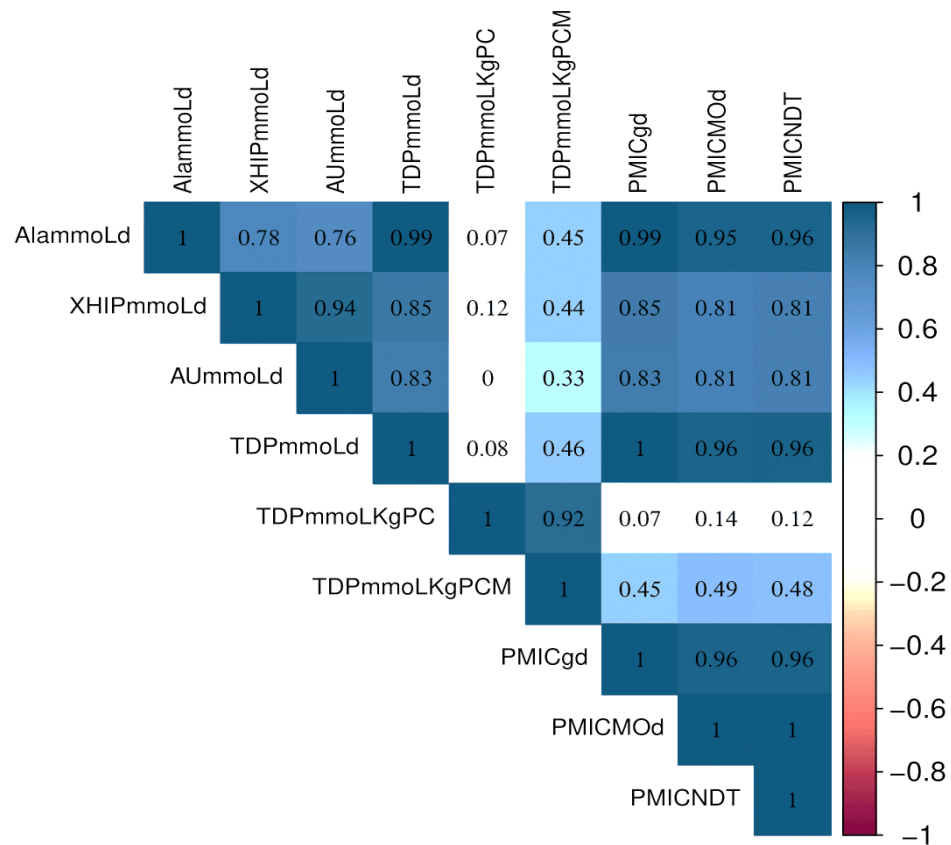
Tabela 6 - Balanço de nitrogênio, síntese e eficiência de proteína bruta microbiana, de ovinos em crescimento

Variável	Médio	Mínimo	Máximo	DP ⁴	CV ⁵
Peso (kg)	26,32	16,6	34,4	5,32	20,21
Balanço de Nitrogênio					
N Fecal	7,97	5,10	11,52	1,78	22,31
N Urinário	7,62	2,19	13,30	2,50	32,97
N ingerido, g/d	30,03	20,68	38,55	5,28	17,59
N retido, g/d	14,48	8,12	20,43	3,06	21,20
N retido, % do N ingerido	48,21	32,06	60,73	7,24	15,02
N retido % do NA ¹	65,64	46,84	86,28	9,48	14,44
Proteína microbiana, g/d					
PB Microbiana	42,52	30,44	57,37	6,89	16,21
Eficiência Microbiana g/kg					
PB microbiana/ MO digestível ² ,	63,62	48,39	87,52	10,10	17,19
PB microbiana/ NDT ³	66,22	50,48	91,32	11,34	17,13

¹N retido, % do NA = Porcentagem do nitrogênio retido em relação ao nitrogênio absorvido; ² g PB microbiana/ MO digestível² = Gramas de proteína bruta microbiana em relação a matéria orgânica digestível; ³g PB microbiana/ NDT³ = Gramas de proteína bruta microbiana em relação aos nutrientes digestíveis totais; ⁴DP= Desvio padrão; ⁵Coeficiente de variação.

A relação da eficiência microbiana expressa com base na matéria orgânica digestível (MOd) e nutrientes digestíveis totais (NDT), apresentaram relação de $r^2=0,92$ para os dois parâmetros (Figura 6). A alantoína teve maior correlação com os derivados de purinas totais (TDP) ($r^2=0,98$), em detrimento de ser o derivado em maior proporção excretado na urina (80,22%).

Figura 7 - Coeficientes de correlação entre as excreções de derivados de purina a síntese e eficiência de proteína microbiana de ovinos em crescimento



4.3 Efeito dos pesos corporais em coletas pontais de urina (*spot*), nas excreções de creatinina e nas relações DP:C e U:C.

Houve efeito dos tempos de coletas ($P < 0.01$) de urina *spot* sobre as excreções de creatinina (mg/d), e das relações DP:C e U:C (Tabela 7). Os maiores valores nas excreções de creatinina foram observados no período diurno, na coleta do horário de 8 horas (Figura 8). Os intervalos de confiança para a excreção de creatinina expressa em mg/L foi $IC(\mu)_{0,95} = [397 \leq \mu \leq 430]$, para estimar o volume urinário.

A relação DP:C apresentaram menores valores ($P < 0.01$) durante o período de 4 e 8 horas da manhã (figura 9) havendo incrementos na excreção depois destes horários, o que coincide com horários de pico da creatinina, diminuindo a relação entre esses metabólitos. Os horários de confiança para a relação DP:C (mg/L) excretada na urina foi $IC(\mu)_{0,95} = [3,24 \leq \mu \leq 3,50]$.

A relação U:C (figura 10), apresentou variações mais proeminentes no horário de 0 horas ($P < 0.0001$). Os horários pontuais de confiança em relação a excreção U:C (mg/L) foi $IC(\mu)_{0,95} = [8,57 \leq \mu \leq 9,66]$, sendo representativa em relação a coleta total.

Tabela 7 - Efeito dos horários de coletas spots de urina sobre a excreção de creatinina, relação derivados purina:creatinina (DP:C) e ureia:creatinina (U:C), de ovinos em crescimento

Horários de coleta	Creatinina (mg/L)	DP:C ¹	U:C ²
0	410.82	3.77	5.90
4	419.48	3.01	9.84
8	496.54	3.08	9.32
12	423.94	3.31	10.32
16	367.59	3.52	9.15
20	370.14	3.47	10.30

P – Valor			
Tempos de coleta	0,01	0,01	0,01

¹DP:C - Razão entre derivados de purina e ureia calculada em mmol/L; ²U:C - Relação entre ureia e creatinina calculada em mg/L.

Figura 8 - Flutuação das excreções de creatinina (mg/L) em função dos tempos de coletas, a cada quatro horas de ovinos em crescimento

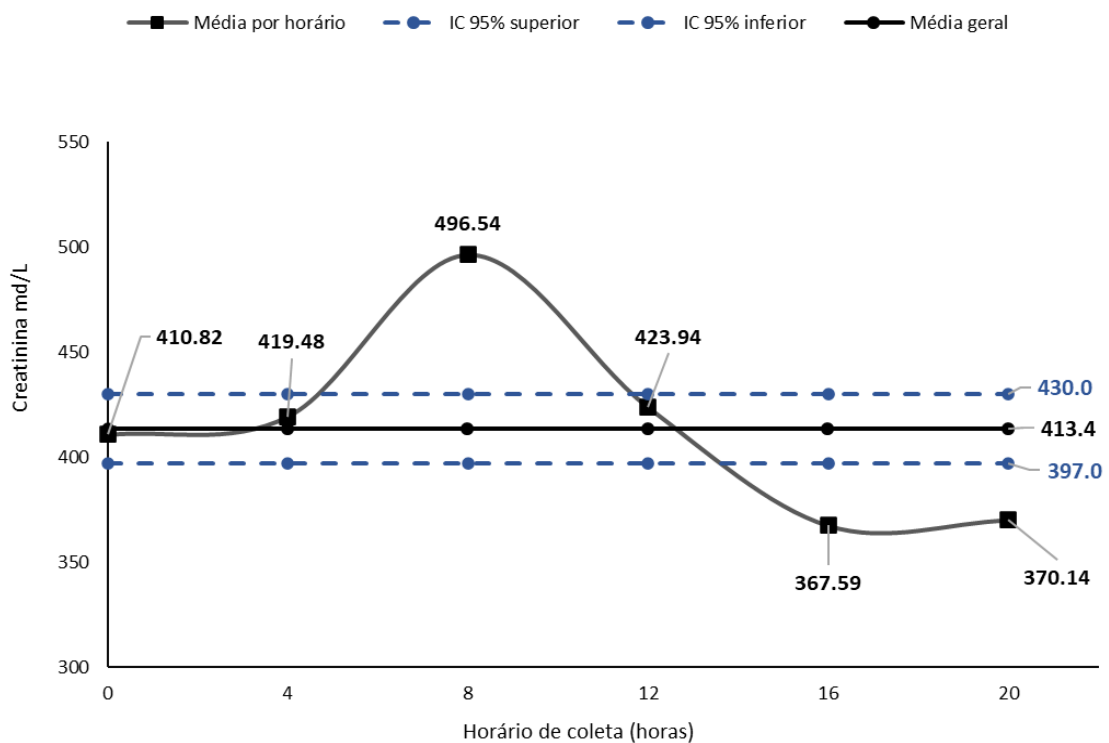


Figura 9 - Perfil Nictemeral da razão entre derivados de purina creatinina (DP:C) (mg/L) em função dos tempos de coletas, a cada quatro horas, de ovinos em crescimento

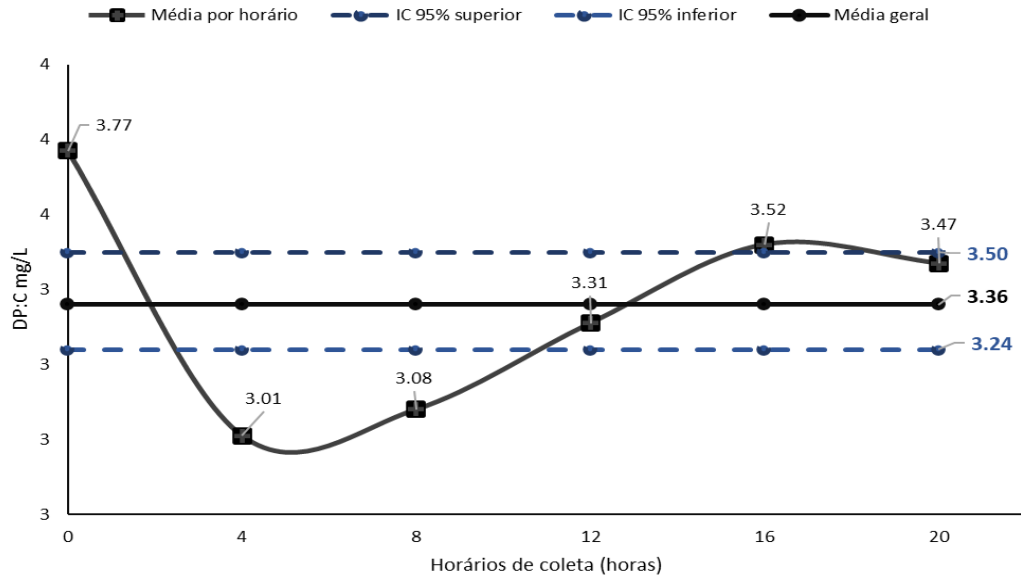
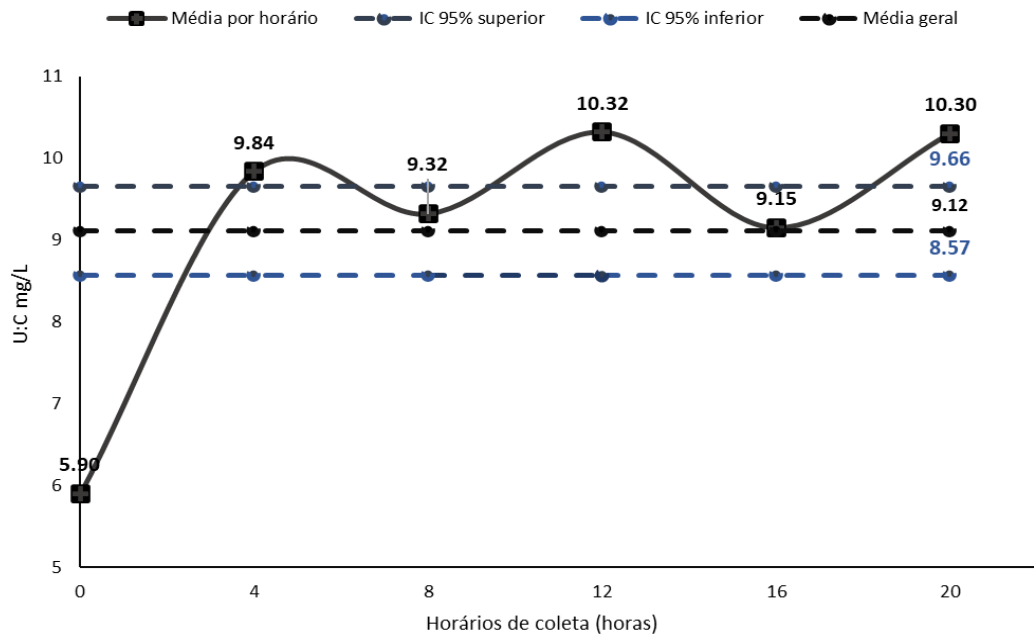


Figura 10 - Perfil Nictemeral da razão entre ureia e creatinina (U:C) (mg/L) em função dos tempos de coletas, a cada quatro horas, de ovinos em crescimento



5 DISCUSSÃO

O CMS é geralmente reconhecido como um dos fatores mais importantes que influenciam no desempenho dos animais, tendo em vista que a quantidade de nutrientes requeridos para satisfazer as exigências nutricionais de manutenção e de produção são influenciados pelo CMS (NRC, 2000; RIAZ *et al.*, 2014). Desta forma, era esperado os acréscimos lineares no PC em relação ao CMS e demais nutrientes.

Sabe-se que com o aumento do peso corporal dos animais, ocorre uma redução no consumo em relação ao peso corporal metabólico, pois o animal de menor superfície corporal ocorre maior exigência por unidade de peso metabólico, portanto, o CMS é superior em relação a animais maiores (CABRAL *et al.*, 2008). Os valores de CMS estão condizentes com aqueles recomendados pelo NRC (2007), que preconiza um consumo médio de 35g/kg de PC por dia.

O coeficiente de digestibilidade aparente é definido como a proporção do alimento que não foi excretado nas fezes, e está ligado à característica do próprio alimento (VAN SOEST, 1994). O presente estudo demonstrou baixa correlação entre o PC e a digestibilidade aparente da MS e nutrientes da dieta, sendo reportado que este parâmetro está diretamente relacionado com a taxa de passagem do alimento através do rúmen (FOTIUS *et al.*, 2014). Apesar da baixa correlação obtida, Jung e Allen (1995), afirmaram que menores taxas de digestibilidade dos nutrientes em animais mais jovens podem estar condicionadas a taxa de passagem mais rápida, ocasionada pelo menor desenvolvimento do rúmen.

Foram encontrados valores de creatinina variando entre 11,03 a 24,24 mg/kg. Resultados semelhantes foram obtidos por Santos *et al.* (2018) que encontraram valores de excreção média de 20,40 mg/kg, para ovinos da raça Dorper.

As concentrações de creatinina urinária estão correlacionadas com o aumento do peso corporal (CHEN *et al.*, 2004). Além disto, estudos tem demonstrado que diferentes espécies apresentam diferenças nas excreções diárias de creatinina. Santos *et al.* (2018), encontraram correlações lineares ($r^2=0,98$) ao relacionar a excreção de creatina (mg/d) em relação ao PC (kg), em análise conjunta de caprinos e ovinos.

Os dados obtidos demonstraram correlação moderada entre a excreção de creatinina (mg/d) e o PC dos animais ($r = 0,56$) e o peso de músculo ($r=0,50$). Com o avanço do estágio fisiológico do animal, a fase maturidade é caracterizada pela redução na deposição de proteína por unidade de ganho de peso (REID; WELLINGTON; DUNN, 1955), dessa forma ao relacionar a excreção de creatinina pode ser alterada em virtude da variação da proporção de tecido corporal dos animais em função do peso (CHIZZOTTI *et al.*, 2008).

Foram observadas relações ($r^2 = 0,55$) entre a excreção DP (mmol/dia) e o peso corporal (kg) dos ovinos. Diversos fatores como a qualidade da dieta, ingestão dos nutrientes, consumo de matéria seca, proteína e energia, peso corporal e a espécie animal são relacionados com as excreções de DP (YU *et al.*, 2002).

O aumento do peso corporal resulta no aumento de consumo de nutrientes, e com isso ocorre mais ingestão de nutrientes proporcionalmente ao peso, dentre estes a proteína, que está intimamente ligado ao metabolismo dos derivados de purina. As médias de excreção diária de DP foram de 0,89 mmol/kg, resultados semelhantes foram relatados por Santos *et al.* (2018), que encontraram excreções médias de 0,83mmol/kg para ovinos da raça Dorper.

Neste estudo foi observado a alta correlação observada entre os DP com a PBmic ($r^2=1$). De acordo com Nolan (1999), existe uma alta correlação positiva com a produção de PBmic e a excreção de DP, devido estes serem os compostos finais do metabolismo das purinas, assumindo-se que são originados das células microbianas ruminais. Esses resultados enfatizam que quantificação das purinas absorvidas está ligada com a produção de proteína microbiana no rúmen, sendo estimada pela excreção de alantoína, xantina, hipoxantina e ácido úrico (GIESECKE; EHRENTREICH; STANGASSINGER, 1994).

Altas correlações foram encontradas entre a PBmic com a matéria orgânica digestível (MOd) e NDT ($r^2=92$). Conforme ocorre o aumento da ingestão de proteína e matéria orgânica degradada no rúmen, ocorre mais síntese de proteína microbiana no rúmen, gerando aumento na excreção dos derivados de purina (DP), via urina (ZHOU *et al.*, 2018). A avaliação da eficiência microbiana é considerada eficaz para comparar a utilização do nitrogênio, pois consiste na síntese de PBmic com base na ingestão de NDT (PEREIRA *et al.*, 2021). A disponibilidade de N e energia no ambiente ruminal são os fatores nutricionais mais limitantes para o crescimento e desempenho da microbiota do rúmen, com isso a relação volumoso:concentrado pode influenciar na atividade fermentativa microbiana (CLARK *et al.*, 1992).

As proporções médias de alantoína, ácido úrico e xantina + hipoxantina, foram de 80,26, 13,06 e 8,11%, respectivamente. As maiores proporções de alantoína encontradas em relação aos demais derivados excretados estão condizentes com as proporções relatadas por Hernandez *et al.* (2014) que variaram entre 75 a 85%. Hipoxantina e xantina podem ser convertidas em ácido úrico, e posteriormente uma parte em alantoína, contribuindo para uma superioridade na proporção desse derivado e alta correlação com a totalidade de derivados de purina excretados (FUJIHARA; TODOROKI; NAKAMURA, 2003). Em detrimento de apresentar maior expressividade quanto as excreções totais de DP, alantoína pode sofrer

variações quanto sua concentração na urina em virtude das proporções dietéticas, no que diz respeito a proporção volumoso:concentrado, onde maior proporção de concentrado resultou em maiores colaborações de alantoína na urina (MA *et al.*, 2014).

Os valores de ácido úrico e xantina + hipoxantina estão em conformidade com os relatados por Chen e Gomes (1992), que encontraram valores médios em torno de 10 a 30% e 5 a 10% da excreção total de derivados de purinas, respectivamente. Importante ressaltar que pequenos ruminantes tem uma atividade reduzida da xantina oxidase na mucosa intestinal e conseqüentemente, menor conversão de purinas em DP (BALCELLS *et al.*, 1993), em detrimento disso as purinas que não metabolizadas estão prontamente disponíveis para ressintetizar purinas, influenciando na excreção dos DP via urina (DEL VALLE *et al.*, 2023).

As variações na excreção de creatinina (mg/L) mostraram aumento significativo nas excreções nos horários entre 4 e 8 horas, e posterior diminuição ao longo do dia.

As mudanças nas concentrações de creatinina na urina excretada no período diurno, pode estar associada às mudanças diurnas do volume de urina, ao invés da produção diurna da creatinina (LEE; MORRIS; DIETER, 2019). Os mesmos autores observaram picos na excreção desse metabólito em vacas leiteiras no período de 6 a 12 horas, tendo sua estabilização e decréscimos até o horário de 22 horas. Diante disso, o aumento no volume urinário representa uma maior diluição do marcador sob a quantidade total de urina produzida (RODRIGUES *et al.*, 2023).

As variações na excreção de creatinina diária podem ocorrer em função da taxa de filtração glomerular nos rins dos animais que estão sujeitos a alterações endógenas circadianas, até mesmo por animais consumindo a mesma dieta (PEREIRA *et al.*, 2013). Poucos estudos ainda relacionam a coleta dos compostos nitrogenados em pequenos ruminantes em condições tropicais, principalmente quando se verifica esse padrão de excreção ao longo do desenvolvimento do animal, em função de diferentes pesos, conformações corporais e nas mesmas condições dietéticas.

A relação DP:C (mg/L) mostrou variações mais proeminentes no período noturno (Figura 9), havendo uma diminuição dessa correlação nas coletas de 0 e 4h, e posterior aumento a partir de 8 horas até 16 horas, com decréscimos discretos até coleta de 20 horas, com horários de confiança verificados 4 horas após a alimentação. Variações discretas de DP:C são relatadas na literatura (HAN; SHIN; LANDIS, 1992). A relação DP:C está relacionada com o consumo de matéria seca e com o fluxo de purinas microbianas que chegam ao intestino delgado (VALADARES *et al.*, 2007). Animais que são alimentados em horários definidos, o suprimento de proteína microbiana pós-ruminal, terá períodos de pico de excreções em detrimento do

horário de alimentação, portanto, horários de coleta spot no momento da alimentação podem resultar em menor excreção de compostos, devido a fase de *lag* de hidratação e colonização das partículas dos alimentos pelos microrganismos ruminais ainda está se iniciando, não refletindo em uma amostra significativa quanto a excreção (MA *et al.*, 2014; NSAHLAI; OSUJI; UMUNNA, 2000).

Resultados contrários foram encontrados por Ningrum, Hanim e Yusiati (2021), demonstraram em seus estudos maiores variações nas relações DP:C para carneiros em comparação as ovelhas, e obtiveram os melhores valores para essa relação de 6 a 9 horas após a alimentação. Neste estudo, tanto a excreção de creatinina como a relação DP:C, no horário de coleta spot as 12 h, se comportaram dentro da faixa de confiança, sendo o horário que compreende 4 horas após a alimentação dos ovinos. Resultado semelhante foi encontrado por Santos *et al.* (2018), que encontram a relação DP:C em coletas spots 3 horas após o fornecimento da alimentação.

No metabolismo protéico dos ruminantes, deve-se considerar que o processo de proteólise irá resultar em moléculas de amônia livres, e que quando estes compostos se encontram em excesso serão absorvidos pelo epitélio da parede do rúmen, podendo, parte serem reaproveitadas através de sua conversão em ureia no fígado, e outra parte excretada pela urina (RUSSEAL *et al.*, 1992). As excreções de ureia estão intimamente relacionadas com o aporte proteico da dieta assim como suas concentrações plasmáticas, sendo dessa forma, um indicativo da dinâmica e eficiência da utilização do nitrogênio no ambiente ruminal (VAN SOEST, 1994). Desta forma, as flutuações nas relações U:C estão relacionados com o fornecimento das dietas nos horários de 8 e 16 horas, corroborando em maiores exceções de 4 horas após o fornecimento da dieta.

6 CONCLUSÕES

A creatinina apresenta correlação linear com relação ao peso corporal ($Y=0,0362x+1,271$, $r^2=0,56$), e peso de carcaça fria ($Y=0,0146x + 8,3627$, $r^2=0,61$). A excreção de creatinina variou de 11,03 a 23,24 (mg/kg).

Os derivados de purina apresentam correlação linear com o peso corporal ($Y = 2,1485x + 2,6913$, $r^2= 0,55$) e peso de carcaça fria ($Y= 0,8309x + 5,6455$, $r^2=0,56$).

Desta forma, nossos resultados demonstram que quatro horas após a alimentação (12 e 20 horas) seriam os horários indicados para realizar coletas *spot* de urina para estimar síntese microbiana, a partir da relação. No entanto, para relação U:C, os horários de confiança foram nos horários da alimentação (8 e 16 horas).

REFERÊNCIAS

- AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL (AFRC). Nutritive requirements of ruminants animals protein. **Nutrition Abstracts and Reviews** (Series B), v.62, n.12, p.787-835, 1992.
- AOAC. 18th ed. **Official Methods of Analysis of AOAC** International, Gaithersburg, M.D, USA. 2005.
- BALCELLS, J.; FONDEVILA, M.; GUADA, J.; CASTRILLO, C.; SURRA, J. C. E. Urinary excretions of purine derivatives and nitrogen in sheep given straw supplemented with different sources of carbohydrates. **Animal Science**, v. 57, n. 2, p. 287-292, 1993.
- BARBOSA, A. M.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. D. C.; PINA, D. S.; DETMANN, E.; LEÃO, M. I. Endogenous fraction and urinary recovery of purine derivatives obtained by different methods in Nelore cattle. **Journal Animal Science**, v.89, p.510-519, 2011.
- BRODERICK, G. A.; MERCHEN, N. R. Markers for quantifying microbial protein synthesis in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 9, p. 2618-2632, 1992.
- CABRAL, L. S.; SANTOS J.W.; ZERVOUDAKIS J. T.; ABREU J. G.; SOUZA A. L.; RODRIGUES R. C. Consumo e eficiência alimentar em cordeiros confinados. **Revista Brasileira de Saúde Produção Animal**. V.9, n.4, p.703-714, 2008.
- CAMPENEERE, S. D.; FIEMS, L.; BOUCQUÉ, C. In vivo estimation of body composition in cattle. In: **Nutrition Abstracts and Reviews. Series B. Livestock Feeds and Feeding**. p. 495-508. 2000.
- CHEN, X. B.; GOMES, M. J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – on overview of technical details. 11 Buscksburnd: **Rowett Research Institute**. International Feed Resources Unit. 1992.
- CHEN, X. B.; JAYASURIYA, M. C. N.; MAKKAR, H. P. S. Measurement and application of purine derivatives: creatinine ratio in spot urine samples of ruminants. In: **Estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivatives**. Springer Netherlands, p. 167-179. 2004.
- CHEN, X. B.; MEJIA, A. T.; KYLE, D. J.; ØRSKOV, E. R. Evaluation of the use of the purine derivative: creatinine ratio in spot urine and plasma samples as an index of microbial protein supply in ruminants: studies in sheep. **The Journal of Agricultural Science**, v. 125, n. 1, p. 137-143, 1995.
- CHIZZOTTI, M. L.; VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D.; CHIZZOTTI, F. H. M.; TEDESCHI, L. O. Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. **Livestock Science**, v. 113, n. 2-3, p. 218-225, 2008.
- CLARK, J. H.; KLUSMEYER, T. H.; CAMERON, M. R. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 75, n. 8, p. 2304-2323, 1992.
- DAS, L. K., KUNDU, S. S.; KUMAR, D.; DATT, C. Metabolizable protein systems in ruminant nutrition: A review. **Veterinary World**, v.7, p.622-629, 2014.

- DEL VALLE, T. A.; DE MORAIS, J. P. G.; CAMPANA, M.; AZEVEDO, E. B.; LOUVANDINI, H.; ABDALLA, A. L. Purine derivatives and creatinine urine excretion as a tool to estimate sheep feed intake. **Animal Feed Science and Technology**, p. 115666, 2023.
- DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C. On the estimation of non-fibrous carbohydrates in feeds and diets. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 62:980-984. 2010.
- FLEMING, S. A.; HUNT, E.L.; RIVIERE, J. E. Renal clearance and fractional excretion of electrolytes over four 6-hour periods in cattle. **American Journal of Veterinary Research**, v.52, n.1, p.5-8, 1991.
- FOTIUS, A. C. A.; FERREIRA, M. D. A.; BISPO, S. V.; VÉRAS, A. S. C.; SALLA, L. E.; CHAGAS, J. C. Behavior of sheep fed different sequences of ingredients in a spineless cactus (*Nopalea cochenillifera* Salm-Dyck) based-diet. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 15, p. 74-82, 2014.
- FUJIHARA, T.; SHEM, M. N. Metabolism of microbial nitrogen in ruminants with special reference to nucleic acids. **Animal Science Journal**, v. 82, n.2, p. 198-208, 2011.
- FUJIHARA, T.; TODOROKI, M.; NAKAMURA, K. The effect of rumen protozoa on the urinary excretion of purine derivatives in goats. **The Journal of Agricultural Science**, v. 140, n. 1, p. 101-105, 2003.
- GEORGE, S. K.; DIPU, M. T.; MEHRA, U. R.; VERMA, A. K.; SINGH, P. Influence of level of feed intake on concentration of purine derivatives in urinary spot samples and microbial nitrogen supply in crossbred bulls. **Asian-australasian journal of animal sciences**, v. 19, n. 9, p. 1291-1297, 2006.
- GIESECKE, D.; EHRENTREICH, L.; STANGASSINGER, M. Mammary and renal excretion of purine metabolites in relation to energy intake and milk yield in dairy cows. **Journal. Dairy Science**, v.77, n.8, p. 2376-2381, 1994.
- HAN, Y. K.; SHIN, H. T.; LANDIS, J. Effect of level of feed intake on the excretion of purine derivatives and purine derivatives to creatinine ratio in the urine of sheep. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 5, n. 3, p. 465-468, 1992.
- HARPER, H. A.; RODWELL, V. W.; MAYES, P. **Manual de Química Fisiológica**, 5 ed. Atheneu, São Paulo, 1977.
- HERNANDEZ, P.; SALEM, A. Z. M.; LÓPEZ, S.; SUN, X. Z.; ROJO, R.; CAMACHO, L. M.; GONZALEZ-RONQUILLO, M. Influence of *Salix babylonica* and *Leucaena leucocephala* leaf extracts on ruminal fermentation characteristics, urinary purine derivative excretion and microbial protein synthesis of lambs. **Livestock Science**, v. 163, p. 80-84, 2014.
- HEYMSFIELD, S. B.; ARTEAGA, C. A.; MANUS, C. M.; SMITH, J. Measurement of muscle mass in humans: validity of the 24-hour urinary creatinine method. **The American journal of clinical nutrition**, v. 37, n. 3, p. 478-494, 1983.
- JUNG, H. G.; ALLEN, S. Characteristic of plant cell walls affecting intake and digestibility of forages by ruminants. **Journal of Animal Science**. v.73, n.9, p.2774- 2790, 1995.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6. ed. San Diego: Academic, 2008.

- KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. Fundação de Apoio a Tecnologia e Ciencia- Editora UFSM, 2017.
- LEE, C.; MORRIS, D. L.; DIETER, P. A. Validating and optimizing spot sampling of urine to estimate urine output with creatinine as a marker in dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 102, n. 1, p. 236-245, 2019.
- LIU, Z. J.; MCMENIMAN, N. P. Effect of nutrition level and diets on creatinine excretion by sheep. **Small Ruminant Research**, v. 63, n. 3, p. 265-273, 2006.
- MA, T.; DENG, K. D.; TU, Y.; JIANG, C. G.; ZHANG, N. F.; LI, Y. L.; DIAO, Q. Y. Effect of dietary concentrate: forage ratios and undegraded dietary protein on nitrogen balance and urinary excretion of purine derivatives in Dorper× thin-tailed Han crossbred lambs. **Asian-Australasian journal of animal sciences**, v. 27, n. 2, p. 161, 2014.
- MATSUDA, J. Mercado de suplementação animal e seus desafios. **AgroANALYSIS**, v. 33, n. 03, p. 39-42, 2013.
- MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC international**, v. 85, n. 6, p. 1217-1240, 2002.
- MILANO, G. D., LOBLEY, G. E. Liver nitrogen movements during short-term infusion of high levels of ammonia into the mesenteric vein of sheep. **British Journal of Nutrition**, v.86, p. 507 – 513, 2001.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient Requirements of Beef Cattle**. Updated 7th Ed. Washington, DC. National Academy Press, 2000.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient Requirements of Small Ruminants** 1.ed. Washington, DC, USA: National Academy Press, 362p. 2007.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL-NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**, v. 6, 1985.
- NINGRUM, T. W.; HANIM, C.; YUSIATI, L. M. Correlation Between Ratio of Purine Derivative: Creatinine Concentrations in Spot Urine Sampling with Total Urinary Excretion of Purine Derivative in Garut Rams and Ewes. In: **2nd International Conference on Smart and Innovative Agriculture (ICoSIA 2021)**. Atlantis Press, p. 93-99.v, 2022.
- NOLAN, J. V. Stoichiometry of rumen fermentation and gas production. In ‘Meeting the Kyoto target. **Implications for the Australian livestock industries**’. (Eds PJ Reyenga, SM Howden) pp. 32–40. 1999.
- NSAHLAI, I. V.; OSUJI, P. O.; UMUNNA, N. N. Effect of form and of quality of feed on the concentrations of purine derivatives in urinary spot samples, daily microbial N supply and predictability of intake. **Animal Feed Science and Technology**, v. 85, n. 3-4, p. 223-238, 2000.
- PATIÑO, P. R.;VAN CLEEF, E. Aspectos chave do crescimento em ovinos aspectos 873 fundamentales del crecimiento em ovinos. **Revista Colombiana de ciência Animal**. n.2, v.2, 874 p.399-421, 2010.
- PEREIRA, G. A.; SANTOS, E. M.; DE OLIVEIRA, J. S.; DE ARAÚJO, G. G. L.; SÁ PAULINO, R.; PERAZZO, A. F; RAMOS, J. P. F.; NETO, J. M. C.; CRUZ, J. F. L.; LEITE, G. M. Intake, nutrient digestibility, nitrogen balance, and microbial protein synthesis in sheep

fed spineless-cactus silage and fresh spineless cactus. **Small Ruminant Research**, v. 194, p. 106293, 2021.

PEREIRA, M. L. A.; PEREIRA, T. C. J.; SILVA, H. G. O.; CRUZ, J. F.; ALMEIDA, P. J. P.; SANTOS, A. B.; SANTOS, E. J.; PEIXOTO, C. A. M. Substitution of corn by mesquite pod meal in pellet diets for lambs: nitrogen compounds metabolism. In: **Energy and protein metabolism and nutrition in sustainable animal production**. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, p. 93-94, 2013.

REID, J. T.; WELLINGTON, G. H.; DUNN, H. O. Some relationships among the major chemical components of the bovine body and their application of nutritional investigations. **Journal of Dairy Science**, v.38, n.12, p.1344-1359, 1955.

RENNÓ, L. N.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. D. C.; LEÃO, M. I., SILVA, J. F. C. D.; CECON, P. R.; GONÇALVES, L. C.; DIAS, H. L. C.; LINHARES, L. S. Concentração plasmática de uréia e excreções de uréia e creatinina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 4, p.1235-1243, 2000.

RIAZ, M. Q.; SÜDEKUM, K. H.; CLAUSS, M.; JAYANEGARA, A. Voluntary feed intake and digestibility of four domestic ruminant species as influenced by dietary constituents: A meta-analysis. **Livestock Science**, v. 162, p. 76-85, 2014.

RODRIGUES, A. N.; PALMA, M. N. N.; RODRIGUES, J. P. P.; OLIVEIRA, C. V. R.; CAMACHO, L. F.; SILVA, T. E. RENNO, L. N.; DETMANN, E. Evaluation of the chromium-EDTA complex and creatinine as markers for urinary volume in cattle. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section A—Animal Science**, p. 1-12, 2023.

RUSSELL, J. B.; O'CONNOR, J. D.; FOX, D. J.; VAN SOEST, P. J.; SNIFFEN, C. J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I Ruminant fermentation. **Journal of Animal Science**. 70:3551-3561. 1992.

SALES, M. F. L.; PAULINO, M. F. E.; VALADARES FILHO, S. C. Níveis de ureia em suplementos múltiplos para terminação de novilhos em pastagem de capim-braquiária durante o período de transição águas-seca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 37: 1704-1712. 2008.

SANTOS, A. C. S.; SANTOS, S. A.; CARVALHO, G. G. P.; MARIZ, L. D. S.; TOSTO, M. S. L.; VALADARES FILHO, S. C.; AZEVEDO, J. A. G. A comparative study on the excretion of urinary metabolites in goats and sheep to evaluate spot sampling applied to protein nutrition trials. **Journal of Animal Science**, v. 96, n. 8, p. 3381-3397, 2018.

SANTOS, S. A.; PRATES, L. L.; DE CARVALHO, G. G. P.; DOS SANTOS, A. C. S.; DE CAMPOS VALADARES FILHO, S.; TOSTO, M. S. L.; MARIZ, L. D. S.; NERI, F. S.; SAMPAIO, M. Q. Creatinine as a metabolic marker to estimate urinary volume in growing goats. **Small Ruminant Research**, v. 154, p. 105-109, 2017.

SILVA JÚNIOR, J. S.; RENNO, L. N.; VALADARES FILHO, S. C.; PAULINO, M. F.; DETMANN, E.; MENEZES, G. C. C.; MARTINS, T. S.; PAULA, R. M.; RODRIGUES, J. P. P.; MARCONDES, M. I. Evaluation of collection days and times to estimate urinary excretion of purine derivatives and nitrogen compounds in grazing Nellore cattle. **Livestock science**, v. 217, p. 85-91, 2018.

SILVA, R. M. N. D.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. D. C.; CECON, P. R.; RENNO, L. N.; SILVA, J. M. D. Urea for dairy cows: 2. estimates of urinary volume,

microbial production and urea excretion. **Revista Brasileira De Zootecnia**, 30(6), 1948–1957, 2001.

SIMMONS, N. L.; CHAUDHRY, A. S.; GRAHAM, C.; SCRIVEN, E. S.; THISTLETHWAITE, A.; SMITH, A. P.; STEWART, G. S. Dietary Regulation of Ruminant Bovine UT-B Urea Transporter Expression and Localization. **Journal of Animal Science**, v. 87, p. 3288 – 3299, 2009.

SUSMEL, P.; STEFANON, B.; PLAZZOTTA, E.; SPANGHERO, M.; MILLS, C. R. The effect of energy and protein intake on the excretion of purine derivatives. **The Journal of Agricultural Science**, v. 123, n. 2, p. 257-265, 1994.

TAS, B. M.; SUSENBETH, A. Urinary purine derivatives excretion as an indicator of in vivo microbial N flow in cattle: A review. **Livestock Science**, v. 111, n. 3, p. 181-192, 2007.

VAGNONI, D. B.; BRODERICK, G. A.; CLAYTON, M. K.; HATFIELD, R. D. Excretion of purine derivatives by Holstein cows abomasally infused with incremental amounts of purines. **Journal of Dairy Science**. 80:1695-1702. 1997.

VALADARES FILHO, S. C.; PINA, D. S.; AZEVÊDO, J. A. G.; VALADARES, R. F. D. Estimativa da produção de proteína microbiana utilizando a excreção de derivados de purinas na urina. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL AVANÇOS EM TÉCNICAS DE PESQUISA EM NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, 1., 2007. Pirassununga. **Anais...** Pirassununga: FMVZ/USP, p.90-120, 2007.

VALADARES, R. F. D.; BRODERICK, G. A.; VALADARES FILHO, S. C.; CLAYTON, M. K. Effect of replacing alfafa silage with high misture on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**. 82:2686-2696. 1999.

VALADARES, R. F. D.; GONCALVES, L. C.; RODRÍGUEZ, N. M.; SAMPAIO, I. B.; VALADARES FILHO, S. C. Metodologia de coleta de urina em vacas utilizando sondas de Folley. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1279- 1282, 1997.

VALENTE, T. N. P.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. D. C.; CUNHA, M. D.; QUEIROZ, A. C. D.; SAMPAIO, C. B. In situ estimation of indigestible compounds contents in cattle feed and feces using bags made from different textiles. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 666-675, 2011.

VAN NIEKERK, B. D. H.; REID, J. T. Urinary creatinine as an index of body composition. **The Journal of Nutrition**, v. 79, n. 4, p. 463-473, 1963.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**, 2nd ed. Cornell University Press, Ithaca, NY. 1994.

VERBIC, J.; CHEN, X. B.; MACLEOD, N. A.; ØRSKOV, E. R. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **The Journal of Agricultural Science**, v. 114, n. 3, p. 243-248, 1990.

WEISS, W. P. Predicting energy values of feed. **Journal of Dairy Science**, 76:1802-1811, 1993.

YU, P.; EGAN, A. R.; BOON-EK, L.; LEURY, B. J. Purine derivative excretion and ruminal microbial yield in growing lambs fed raw and dry roasted legume seeds as protein supplements. **Animal Feed Science and Technology**, v. 95, n. 1-2, p. 33-48, 2002.

ZHOU, J.W.; JING, X.P.; DEGEN, A.A.; LIU, H.; ZHANG, Y.; YANG, G.; LONG, R.J. Effect of level of oat hay intake on apparent digestibility, rumen fermentation and urinary purine derivatives in Tibetan and fine-wool sheep. **Animal Feed Science and Technology**. 241, 112–120. 2018.