



Fornecimento de suplementos com diferentes níveis de energia e proteína para vacas Jersey e seus efeitos sobre a instabilidade do leite

Lúcia Treptow Marques¹, Vivian Fischer², Maira Balbinotti Zanela², Maria Edi Rocha Ribeiro³, Waldyr Stumpf Junior³, Naiana Manzke¹

¹ Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Veterinária - Rua Anchieta, 3635/402 - Pelotas - RS - CEP: 96015-420.

² Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Zootecnia e Medicina Veterinária Preventiva - Av. Bento Gonçalves, 7712, CEP: 91540-000 - Porto Alegre - RS.

³ Embrapa Clima Temperado, BR 392, Km 78, Caixa Postal 403, CEP: 96001-970, Pelotas, RS.

RESUMO - Objetivou-se avaliar o efeito de suplementos contendo três combinações de energia e proteína sobre a produção leiteira, as características físico-químicas do leite, o peso e a condição corporal e o perfil bioquímico sanguíneo de vacas. Foram utilizadas 24 vacas lactantes em campo natural, distribuídas em delineamento completamente casualizado, recebendo um dos seguintes suplementos: baixos níveis de energia e proteína; baixo nível de energia e alto nível de proteína; ou altos níveis de energia e proteína. Em comparação ao suplemento com baixos níveis de energia e proteína, aquele com altos níveis de energia e proteína reduziu a instabilidade do leite na prova do álcool, aumentou em 50% a produção de leite e em 18% o escore de condição corporal das vacas. Além disso, ocasionou aumento dos componentes do leite e do perfil bioquímico sanguíneo das vacas: 13% no teor de lactose; 9% no de extrato seco desengordurado; 21% nos níveis plasmáticos de glicose; 24% no teor de fósforo; 16% no nível de creatinina; 9% no teor de magnésio; e reduziu em 40% o teor de nitrogênio ureico. O suplemento com altos níveis de energia e proteína foi mais eficiente que os demais em melhorar a estabilidade do leite na prova do álcool, o escore de condição corporal e os teores de alguns componentes químicos do leite e do sangue.

Palavras-chave: composição química, desequilíbrio nutricional, perfil bioquímico sanguíneo, prova do álcool

Supply of supplements with different levels of energy and protein to Jersey cows and their effects on milk instability

ABSTRACT - The aim of the study was to evaluate the effects of supplements with three combinations of energy and protein on milk production, milk physical and chemical characteristics, body weight, body condition score and blood biochemical profile of the cows. It was used, in this experiment, 24 lactating cows on natural fields distributed in a complete random design, receiving one of the following supplements: low levels of energy and protein, low level of energy and high level of protein or high levels of energy and protein. Compared to the low energy and protein supplement, high energy and protein supplement reduced milk instability in the alcohol test, it increased milk production in 50%, and body condition score of the cows in 18%. In addition, it increased milk components and blood biochemical profile of the cows: 13% in lactose content; 9% in non-fat dry extracts; 21% in glucose plasmatic levels, 24% in phosphorus content, 16% in creatinine content, 9% in magnesium contents; and it reduced ureic nitrogen in 40%. The supplement with high levels of energy and protein was more efficient than the others in improving milk stability in the alcohol test, body condition score and contents of some chemical components of the milk and of blood.

Key Words: alcohol test, blood biochemical profile, chemical composition, nutritional unbalance

Introdução

A Instrução Normativa 51 (IN51) manteve a prova do álcool, com concentração mínima de etanol de 72% (v/v) como um dos critérios de avaliação da qualidade do leite (MAPA, 2002).

A redução da estabilidade térmica do leite, estimada pelo teste do álcool, é um problema encontrado em vários

estados do Brasil. Estudos sistemáticos avaliando a sua ocorrência são ainda limitados e foram efetuados nas regiões sudeste, sul e noroeste do Rio Grande do Sul (Conceição et al., 2001; Oliveira et al., 2002; Zanela et al., 2009; Marques et al., 2007), São Paulo (Lopes, 2008) e em algumas regiões de Minas Gerais, São Paulo e Rio de Janeiro (Roma Jr. et al., 2006).

No estado do Rio Grande do Sul, a ocorrência de leite com acidez titulável entre 14 e 18°D (faixa normal) e que

precipita no teste do álcool variou entre 50 a 68%, e esse leite foi denominado de leite instável não ácido ou LINA (Fischer, 2005). Consta-se que uma fração considerável das amostras de leite recebidas pela indústria não atende o critério da estabilidade no teste do álcool ou alizarol.

No Rio Grande do Sul, os produtores de leite têm como maior fator de estrangulamento da produção, a falta de reserva alimentar nos meses de março, abril e novembro de cada ano (Rodrigues et al., 2006a; Bittencourt et al., 2001; Stumpf et al., 2000). Observa-se, na região, estímulo, por parte da indústria, à aquisição de concentrados com elevado teor de proteína como forma de balanceamento da dieta (Rodrigues et al., 2006b). Em consequência, frequentemente os produtores fornecem proteína em excesso e/ou níveis baixos de energia aos animais.

Estudos anteriores (Zanela et al., 2006; Fruscalso, 2007) demonstraram uma associação entre diminuição do aporte nutricional generalizado (energia, proteína, minerais) por meio da redução de 40 a 50% do fornecimento da dieta e a redução da estabilidade na prova do álcool e produção de leite porém não estudaram a ação dos diferentes nutrientes, como energia e proteína sobre as características do leite e dos animais.

Este experimento foi realizado com o objetivo de verificar o efeito do fornecimento de suplementos formulados com três combinações de níveis de energia e proteína sobre a estabilidade do leite à prova do álcool.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido na Estação Experimental de Terras Baixas, Embrapa Clima Temperado, em Pelotas, RS no período de 1 de março a 19 de maio de 2005. A seleção dos animais experimentais foi realizada sobre um total de 37 vacas Jersey em lactação, obedecendo aos critérios: vacas com leite positivo à prova do álcool 76%, leite negativo à mastite subclínica pelo Califórnia Mastitis Test (CMT). As 24 vacas selecionadas (9 primíparas e 15 multíparas) foram distribuídas aleatoriamente em três grupos aos quais foram sorteados os suplementos, segundo delineamento completamente casualizado. Os dados do estádio de lactação dos animais foram utilizados como covariáveis.

O estudo foi dividido em três etapas: pré-experimental, adaptação às dietas e experimental. No período pré-experimental, de 24 a 31 de março (8 dias), os animais receberam 4 kg do suplemento com baixos níveis de energia e proteína, o qual vinha sendo oferecido aos animais há mais de 4 semanas (Tabela 1). Nessa etapa, todos os animais apresentaram reação positiva à prova do álcool 76%. Além do suplemento, os animais foram mantidos em campo natural, cuja avaliação foi realizada no dia 3 de maio, pelo método Botanal (Tothill et al., 1992). Na avaliação, a pastagem apresentou massa de forragem de 1.553 kg MS/ha, composição florística de *Cynodon dactylon* (30,8%), *Axonopus affinis* (26%), *Eragrostis plana* Nees (14%) e

Tabela 1 - Quantidade dos alimentos, em kg de matéria seca/animal/dia, utilizados na formulação dos suplementos e sua composição química

Alimento	Suplemento		
	Baixos níveis de energia e proteína	Baixo nível de energia e alto nível de proteína	Altos níveis de energia e proteína
Feno de alfafa	-	4,00	4,00
Milho moído	1,62	2,46	4,40
Farelo de soja	1,26	1,53	-
Casca de soja	-	-	3,56
Farelo de trigo	0,53		
Ureia	-	0,16	-
Fosfato bicálcico	0,04	0,11	0,11
Calcário calcítico	0,04	-	-
Bovigold ¹	0,04	0,04	0,04
Sal comum	0,04	0,04	0,04
Composição química do suplemento (kg/vaca/dia)			
Proteína bruta	0,84	1,96	1,70
Nutrientes digestíveis totais	2,44	5,44	8,50
Percentual dos nutrientes fornecidos pelo suplemento em relação às exigências ²			
Proteína bruta	50	115	100
Nutrientes digestíveis totais	32	64	100

¹ O sal mineral apresentou a seguinte composição, em % da MS: sódio - 48; cálcio - 23; enxofre - 15; fósforo - 9; 2 Mg; e em ppm: cobalto - 100; cobre - 700; iodo - 80; ferro - 2.000; manganês - 1.250; selênio - 20; e zinco - 2.700.

² Exigências segundo o NRC para vacas com 400 kg de peso corporal, produzindo 15 l de leite com 3,5% de gordura.

Sporobolus indicus (14%) e composição química: 7,58% proteína bruta, 77,10% de FDN e 42,14% de FDA.

No período de adaptação de 1 a 13 de abril (13 dias), foram fornecidos os três suplementos: baixos níveis de energia e proteína, baixo nível de energia e alto nível de proteína e altos níveis de energia e proteína (Tabela 1).

O período experimental se estendeu de 14 de abril a 11 de maio (28 dias). Ao início e final do período experimental, foram efetuadas coletas de sangue e de leite em todas as vacas por dois dias consecutivos. Nas amostras de leite, foram determinadas a densidade e temperatura por termolactodensímetro e a acidez titulável ($^{\circ}$ Dornic) (Tronco, 1997). Foi realizada a prova do álcool com as seguintes concentrações de álcool na solução alcoólica: 68, 70, 72, 74, 76, 78 e 80% v/v. Foram misturados 2 mL de leite e 2 mL de solução alcoólica em placa de Petri, colocada sobre fundo escuro para facilitar a visualização dos coágulos. O resultado, denominado no texto como precipitação, foi expresso como a menor porcentagem de álcool na mistura que provocou a coagulação do leite.

No Laboratório de Controle de Qualidade de Alimentos, Universidade de Passo Fundo, Rio Grande do Sul, foram determinados os teores de: gordura, lactose, proteína bruta e sólidos totais pelo método de espectrofotometria por radiação infravermelha (Fonseca & Santos, 2000). A contagem de células somáticas (CCS) foi realizada pelo método de contagem eletrônica por citometria de fluxo. Foram medidas as produções de leite e efetuada sua correção para 4% de gordura, conforme a equação: $PL4\% = (PL \times 0,4) + (15 \times PL \times Gb/100)$ (NRC, 2001). No primeiro e último dia do período experimental, após a ordenha e antes do fornecimento do suplemento, realizaram-se a pesagem dos animais e avaliação da condição corporal segundo escala de cinco pontos (Wildman et al., 1982).

As amostras de sangue foram coletadas na veia coccígea dos animais após a ordenha e antes do fornecimento do suplemento e enviadas para laboratório em até 2 horas pós-coleta, para determinação de: glicose, N-ureico, creatinina (método enzimático), potássio, sódio, cloretos (método de íons eletrodo seletivo), cálcio (púrpura de ftaleína), fósforo (molibdato de amônia), magnésio (magon sulfonado).

O teste para detecção de mastite subclínica “Califórnia Mastitis Test” (CMT) foi realizado quinzenalmente e a mastite clínica foi monitorada em cada ordenha pelo teste da caneca de fundo escuro. No grupo que recebeu o suplemento com baixo nível de energia e alto nível de proteína, um animal foi excluído por falta de adaptação à dieta com ureia e não foi possível sua reposição, por falta de adequação dos animais restantes às características homogêneas dos grupos selecionados para os tratamentos. O delineamento adotado

foi o completamente casualizado, com três suplementos com oito repetições para os suplementos com altos níveis de proteína e energia e com baixos níveis de energia e proteína e com sete repetições para aquele com baixo nível de energia e alto nível de proteína. As variáveis foram submetidas à análise de variância, testando o efeito do tipo de suplemento.

Todas as variáveis mensuradas no período pré-experimental foram analisadas, no entanto, apesar de nem todas terem sido apresentadas neste trabalho, quando houve diferenças significativas entre os grupos de animais, os resultados foram utilizados como covariáveis para ajustar os resultados obtidos no período experimental.

O número de dias em lactação foi usado como covariável de todas as variáveis, e os valores de crioscopia e nitrogênio ureico observados no período pré-experimental foram usados como covariáveis das mesmas variáveis avaliadas no período experimental. O modelo estatístico geral usado foi: $Y_{ij} = m + S_i + \beta DL + E_{ij}$, em que: Y_{ij} = observações realizadas no j -ésimo indivíduo recebendo o i -ésimo tratamento (suplemento); S_i = i -ésimo suplemento; βDL = ajuste das médias pelo número de dias em lactação; e E_{ij} = erro experimental. As médias foram separadas pelo teste DMS de Fisher e o nível máximo de probabilidade adotado foi de 0,05 (SAS, 2001).

Resultados e Discussão

O fornecimento dos suplementos alterou de forma expressiva as características físico-químicas, a produção de leite, o peso e o escore de condição corporal, além dos componentes sanguíneos.

O grupo que recebeu o suplemento com altos níveis de energia e proteína produziu 50% mais leite em comparação àquele que recebeu o suplemento com baixos níveis desses nutrientes (Tabela 3).

O leite das vacas que receberam altos níveis de energia e proteína foi mais estável na prova do álcool (foi necessária maior concentração de álcool na solução alcoólica) que o leite produzido pelos demais grupos, os quais não diferiram entre si (Tabela 2). Nesse mesmo grupo de vacas, o leite apresentou maior densidade e maiores teores de lactose e extrato seco desengordurado, além de maiores valores de acidez titulável, extrato seco total e crioscopia em relação ao leite obtido com a suplementação de baixos níveis de energia e proteína. Os valores de gordura foram inferiores aos obtidos no grupo sob suplementação com baixo nível de energia e alto nível de proteína e os de CCS inferiores aos obtidos nos outros dois grupos (Tabela 3).

O sangue dos animais que receberam altos níveis de energia e proteína apresentou maiores valores de glicose,

Tabela 2 - Características produtivas iniciais de vacas Jersey recebendo suplementos formulados com três combinações de energia e proteína

Variável	Suplemento		
	Baixos níveis de energia e proteína	Altos níveis de energia e proteína	Baixo nível de energia e alto nível de proteína
Peso corporal (kg)	365,94 ± 21,9	391,50 ± 21,9	398,00 ± 23,4
Escore de condição corporal	2,97 ± 0,16	3,25 ± 0,16	3,34 ± 0,17
Dias em lactação	212 ± 28,1	196 ± 28,1	244 ± 30,03
Produção de leite corrigida para 4% de gordura	10,90 ± 1,57	11,84 ± 1,57	12,76 ± 1,68

Tabela 3 - Resultados médios conforme o tipo de suplemento oferecido e sua significância sobre a produção e os aspectos físicos e químicos do leite

Item	Suplemento			P>F
	Baixos níveis de energia e proteína	Altos níveis de energia e proteína	Baixo nível de energia e alto nível de proteína	
Produção de leite (L) ¹	8,66b	12,97a	13,16a	0,0084
Precipitação (% álcool v/v) ²	69,23b	74,97a	70,81b	0,0042
Densidade (g/dL)	1029,07b	1030,66a	1029,51b	0,0145
Acidez titulável (°D)	18,26b	20,97a	19,67ab	0,0137
Crioscopia (°H)	-0,5397a	-0,5520b	-0,5432ab	0,0237
Lactose (%)	4,03c	4,56a	4,34b	0,0001
Gordura (%)	4,76b	4,77b	5,41a	0,0365
Proteína bruta (%)	3,93a	3,86a	3,95a	0,8379
Extrato seco total (%)	13,34b	14,15a	14,44a	0,0006
Extrato seco desengordurado (%)	8,58c	9,38a	9,03ab	0,0004
CCS (x células/mL) ³	250.601a	46.309b	87.058ab	0,0209

Valores ajustados para a covariável dias em lactação.

¹ Produção de leite corrigida para 4% de gordura.

² Menor porcentagem de álcool na mistura que provocou a coagulação do leite.

³ Contagem de células somáticas.

creatinina, fósforo, mas menores valores de nitrogênio-ureico em relação aos dois grupos; maiores valores de magnésio em relação ao grupo sob suplementação com baixos níveis de energia e proteína (Tabela 4). Esses animais apresentaram ainda maior escore de condição corporal (ECC) e tendência de maior peso corporal.

Os grupos que receberam os suplementos com altos níveis de energia e proteína e com baixo nível de energia e alto nível de proteína mantiveram suas produções como no período pré-experimental, enquanto o grupo sob suplementação com baixos níveis de energia e proteína reduziu sua produção leiteira (Tabelas 2 e 3). Isso pode estar parcialmente relacionado ao maior aporte nutricional aos animais desses grupos em relação àquele mantido com níveis baixos de energia e proteína. Entretanto, o aumento do aporte nutricional não foi efetivo em aumentar o nível de produção leiteira dos grupos que receberam os suplementos com alto nível de proteína e altos níveis de proteína e energia.

Esse fato pode estar parcialmente relacionado ao avançado estágio lactacional, superior a 220 dias, e em parte relacionado ao processo de apoptose. A subnutrição pode aumentar a apoptose das células epiteliais mamárias

e a readequação da dieta nem sempre recupera totalmente a produtividade dos animais.

Pesquisas de Capuco et al. (2001) indicam que a subnutrição eleva o nível de plasmina no leite, acelerando a apoptose das células epiteliais mamárias e reduzindo a capacidade produtiva dos animais.

As modificações sofridas pelo campo natural podem ter reduzido a produção de leite, o escore de condição corporal e o peso vivo nas vacas que receberam baixos níveis de energia e proteína durante o período experimental em relação ao período pré-experimental (Tabelas 2 e 3), embora a composição química da pastagem não tenha sido avaliada detalhadamente. O experimento foi conduzido entre março e maio, ou seja, final do ciclo das espécies estivais que compõe a maior proporção das espécies da pastagem natural.

A manutenção da produção leiteira nas vacas sob suplementação com baixo nível de energia e alto nível de proteína em relação ao período pré-experimental, porém com concomitante redução do peso corporal e do escore de condição corporal, sugere que a produção leiteira foi mantida a expensas das reservas corporais, o que pode ter efeitos negativos sobre a produção leiteira e a reprodução. Embora a massa de forragem não tenha sido avaliada periodicamente,

Tabela 4 - Composição química do sangue e resultados da pesagem e condição corporal de vacas recebendo suplementos com três combinações de energia e proteína

Item	Suplemento			P>F
	Baixos níveis de energia e proteína	Altos níveis de energia e proteína	Baixo nível de energia e alto nível de proteína	
Glicose (mg/dL)	49,61b	60,10a	49,97b	0,0001
N-ureico (mg/dL)	16,49b	9,94c	21,82a	0,0001
Creatinina (mg/dL)	0,818b	0,951a	0,786b	0,0014
Potássio (mEq/L)	4,69	4,54	4,65	0,6089
Sódio (mEq/L)	137,23a	137,37a	134,20a	0,0713
Cálcio (mg/dL)	9,47	9,42	9,61	0,7119
Fósforo (mg/dL)	5,15b	6,38a	4,94b	0,0065
Magnésio (mg/dL)	2,12b	2,31a	2,27ab	0,0035
Cloreto (mEq/L)	98,56a	97,03ab	96,83b	0,0064
Peso corporal (kg)	353,00b	400,82a	341,71b	0,0520
Escore de condição corporal	2,77b	3,26a	2,55b	0,0003

Médias dos tratamentos ajustadas para a covariável dias em lactação.

avaliações visuais indicaram uma massa de forragem reduzida, com altura do resíduo inferior a 4 cm.

Ainda de maneira não totalmente elucidada, vários autores têm verificado maior instabilidade do leite à prova do álcool quando os animais são submetidos a restrição alimentar. Esses resultados foram reportados para vacas da raça Jersey confinadas (Zanela et al., 2006) e em pastejo (Fischer et al., 2006a) e para vacas da raça Holandesa em pastejo (Fruscalso, 2007).

O desequilíbrio do ambiente ruminal pode modificar a composição e o pH sanguíneos, que podem afetar o metabolismo das células epiteliais mamárias, causando mudanças na composição do leite relacionadas à sua capacidade de resistir à desidratação alcoólica.

A redução da estabilidade no teste do álcool possivelmente está, em parte, relacionada às alterações no grau de hidratação das micelas de caseína. A desidratação, além do teor de sais, pH e temperatura, modificam as interações físico-químicas entre as moléculas de caseína, aumentando a reatividade superficial das micelas, levando-as à coagulação (Goff, 1995).

Outro efeito mediado, parcialmente, pela restrição alimentar é a redução da lactose, embora o efeito da CCS, diminuindo o teor de lactose, seja reconhecido e possível. Todavia, valores tão baixos de lactose podem estar associados a valores muito mais elevados de contagem de células somáticas, superiores a 1.000.000 células somáticas, que os encontrados no presente estudo (Schallibaum, 2001). Nesse caso, a variação da contagem de células somáticas explicou 16% da variação da lactose (% lactose = 4,90 – 0,08 CCS – 0,0009 n° de dias em lactação, P=0,0053, R² modelo = 0,22; R² parcial CCS = 0,16).

O maior aporte nutricional, juntamente com a menor contagem de células somáticas, se refletiu no maior teor de lactose, possivelmente relacionado à maior produção de

propionato ruminal, normalmente observada em condições de maior aporte de energia ao rúmen e, portanto, maior disponibilidade de glicose para a glândula mamária (NRC, 2001; Muhlbach, 2003). Outros trabalhos, com aplicação de restrição alimentar em delineamento reversível, verificaram a redução da produção de leite e dos teores de lactose (Zanela et al., 2006; Fruscalso, 2007; Fischer, 2005; Agenas et al., 2003).

A lactose, juntamente com o sódio, potássio e cloro, é responsável pelo equilíbrio osmótico com o sangue. É possível que, com a redução de lactose no leite das vacas sob suplementação com baixos níveis de energia, tenha ocorrido maior passagem desses minerais para o leite, assim como ocorre na mastite ou em situações de estresse em que há redução da coesão das junções entre as células epiteliais mamária ou *tight junctions* (Stelwagen et al., 2000). A adição de cloreto de sódio desestabiliza o leite, pois aumenta a força iônica, reduz o pH, aumenta a solubilização dos cátions divalentes como o Ca⁺⁺ e o Mg⁺⁺, o que aumenta a chance de aglutinação das micelas de caseína (Horne & Muir, 1990; Graet & Gaucheron, 1999; Agenas et al., 2003).

Os maiores valores de densidade e menores de crioscopia do leite das vacas sob suplementação com altos níveis de energia e proteína podem estar relacionados ao maior teor de extrato seco desengordurado, especialmente ao teor de lactose e ao menor teor de gordura. Muhlbach (2003) relata que dietas deficientes, principalmente em concentrados e minerais, levam à produção de leite com menor densidade e maior temperatura de congelamento. A acidez titulável ficou um pouco acima do exigido pelo IN51 (MAPA, 2002), mas essa exigência se aplica ao leite de mistura do rebanho. A coleta individual de leite de animais, sobretudo da raça Jersey, com maior teor de sólidos, pode levar a valores um pouco superiores, até 20°D, sem que o leite seja considerado ácido.

A ausência de alteração nos teores da proteína total do leite está de acordo com informações de Zanela et al. (2006) e Fruscalso (2007), mas aparentemente contraria algumas teorias sobre o efeito da restrição alimentar na redução do teor de proteína láctea, como: a) aumento do teor de proteína em consequência da concentração, por causa da redução no volume de leite produzido; e b) redução do teor de proteína em função da maior utilização de aminoácidos para a produção de energia, restringindo a síntese de proteínas nas células epiteliais mamárias (Mulhbach, 2003). Os maiores valores de CCS no leite dos animais que receberam os suplementos com baixos níveis de energia e proteína e com baixo nível de energia e alto nível de proteína poderiam estar associadas à menor síntese de proteína na glândula mamária e à maior passagem de proteínas do soro sanguíneo para o leite, o que manteria os valores de proteína bruta semelhantes entre os grupos (Schallibaum, 2001). O aumento do aporte nutricional obtido com o fornecimento de níveis de concentrado pode aumentar (Stelzer et al., 2009) ou não exercer efeitos sobre o teor de proteína bruta do leite (Silva et al., 2009).

No caso dos animais sob suplementação com baixos níveis de energia e proteína podem ter ocorrido dois fenômenos: a maior concentração do teor de proteína pela redução na produção de leite, mas contrabalançado pela redução da síntese protéica na glândula mamária, decorrente da limitação da síntese microbiana no rúmen e maior alocação de aminoácidos neoglicogênicos para formar glicose, com redução da disponibilidade de aminoácidos na glândula mamária para síntese da proteína láctea. A menor glicemia das vacas desse grupo pode atestar a necessidade de deslocar aminoácidos para a rota neoglicogênica.

Em outros estudos, onde os animais sofreram restrição alimentar (Fischer et al., 2006b) ou foram privados de alimento (Sobhani et al., 1998; Agenas et al., 2003), a glicose sanguínea decresceu a valores inferiores a 50 mg/dL e a creatinina decresceu a valores abaixo de 0,80 mg/dL acompanhando a redução do peso dos animais.

O maior teor de gordura encontrado no leite das vacas sob suplementação com baixo nível de energia e alto nível de proteína poderia ser parcialmente explicado pelo efeito provocado pela perda de peso e de escore de condição corporal, pois os compostos cetônicos, mobilizados das reservas corporais, são secretados no leite, sendo, equivocadamente, interpretados como gordura (Muhlbach, 2003). Agenas et al. (2003) verificaram que vacas privadas de alimento que reduziram em 50% a sua produção leiteira, produziram leite com maior teor de gordura.

Os elevados teores de N-ureico encontrados nos animais sob suplementação com baixos níveis de energia e proteína e com baixo nível de energia e alto nível de proteína estão relacionados, respectivamente, à deficiência de carboidratos solúveis no rúmen e ao excesso de proteína degradável. Nas vacas sob suplementação com baixos níveis de energia e proteína, possivelmente, a maturação do campo nativo, composto por espécies de ciclo estival, contribuiu para a redução da digestibilidade, aumentando o déficit energético mais pronunciadamente que o protéico, com maior produção de amônia no rúmen. Já naquelas que receberam o suplemento com baixo nível de energia e alto nível de proteína, o aporte de proteína excessivo causou desequilíbrio entre a energia e a proteína no rúmen, elevando a concentração de N-ureico no sangue. Agenas et al. (2003) verificaram maiores níveis de nitrogênio ureico no leite de vacas sob restrição alimentar.

Embora tenham sido detectadas diferenças nos teores de minerais sanguíneos, seus valores se situam dentro ou próximos da faixa normal. Os valores considerados normais, segundo Gonzáles & Silva (2006), para alguns dos componentes sanguíneos são: glicose (45 a 75 mg/dL), ureia (17 a 45 mg/dL), potássio (3,9 a 5,8 meq/L), sódio (132 a 152 mEq/L), cálcio (7,4 a 13 mg/dL), fósforo (3,4 a 7,1 mg/dL), magnésio (1,7 a 3 mg/dL) e cloretos (99 a 104 meq/L). O maior valor de creatinina encontrado nas vacas sob suplementação com altos níveis de energia e proteína é, provavelmente, decorrente da maior massa muscular, pois essas vacas mantiveram seu peso corporal, enquanto aquelas sob suplementação com baixos níveis de energia e proteína e com baixo nível de energia e alto nível de proteína perderam, respectivamente, 15 e 50 kg.

Conclusões

O adequado balanço de energia e proteína no suplemento melhora a estabilidade do leite na prova do álcool, adequando-o à legislação vigente, enquanto o fornecimento de proteína dietética em excesso sem considerar as exigências energéticas não tem efeito benéfico sobre esse aspecto.

Agradecimentos

Ao CNPq, pelos recursos financeiros provenientes do edital universal 2003 e pagamento de bolsa de produtividade em pesquisa. À EMBRAPA Clima Temperado, pelo convênio de pesquisa, pela cessão das instalações, pelos animais experimentais, pelo funcionários e apoio logístico. Aos bolsistas de iniciação científica e alunos de graduação, pelo trabalho durante o experimento.

Referências

- AGENAS, S.; DAHLBORN, K.; HOLTENIUS, K. Changes in metabolism and milk production during and after feed deprivation in primiparous cows selected for different milk fat content. **Livestock Production Science**, v.83, p.153-164, 2003.
- BITTENCOURT, D.; XAVIER, S.; TERRA, V.S.S. A cadeia produtiva do leite no Rio Grande do Sul. In: SEMINÁRIO DE PECUÁRIA LEITEIRA DAS MISSÕES, 1., 2001, São Miguel das Missões. **Palestras...** São Miguel das Missões: 2001. p.59-70.
- CONCEIÇÃO, R.C.S.; MARQUES, L.T.; GANDRA, E.A. et al. Correlação entre as provas do álcool e da acidez titulável para amostras de leite com Síndrome do leite anormal (SILA). In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 10., 2001, Pelotas. **Anais...** Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2001. (CD-ROM).
- CAPUCO, A.V.; WOOD, D.L.; BALDWIN, R. et al. Mammary cell number, proliferation, and apoptosis during a bovine lactation: relation to milk production and effect of bST. **Journal of Dairy Science**, v.84, n.10, p.2177-2187, 2001.
- FISCHER, V. Incidência, caracterização, quadro experimental e tratamento do leite instável não ácido (LINA) no RS. In: **Relatório técnico final das atividades desenvolvidas relativas ao projeto 474974/2003-0**. Porto Alegre: 2005. 70p.
- FISCHER, V.; MARQUES, L.T.; ZANELA, M.B. et al. Chemical composition of unstable non-acid milk. In: International Workshop on the Biology of Lactation Farm Animals. **Revista de Ciências Veterinárias**, v.4, n.4, s.1, p.52, 2006a.
- FISCHER, V.; MARQUES, L.T.; ZANELA, M.B. et al. Chemical composition of unstable non-acid milk. In: International Workshop on the Biology of Lactation Farm Animals. **Revista de Ciências Veterinárias**, v.4, n.4, s.1, p.52, 2006b.
- FRUSCALSO, V. **Influência da oferta da dieta, ordem e estádio de lactação sobre as propriedades físico-químicas e microbiológicas do leite bovino e a ocorrência do leite instável não ácido**. Porto Alegre, 2007. 132f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre.
- GOFF, D [1995]. **Dairy science and technology**. Disponível em: <<http://www.foodsci.uoguelph.ca/dairyedu/home.html>>. Acesso em: 18/10/2005.
- GONZALES, F.H.D.; SILVA, S.G. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 2.ed. Porto Alegre: Editora UFRGS, 2006. 358p.
- GRAET, Y.L.; GAUECHERON, F. pH-induced solubilization of minerals from casein micelles: influence of casein concentration and ionic strength. **Journal of Dairy Research**, v.66, p.215-224, 1999.
- HORNE, D.S.; MUIR, D.D. Alcohol and heat stability of milk protein. **Journal of Dairy Science**, v.3, p.3613-3626, 1990.
- LOPES, L.C. **Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido (LINA) na região de Casa Branca, estado de São Paulo**. 63f. 2008. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade de São Paulo, Pirassunga.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA. **Instrução Normativa N. 51**. Brasília, 2002.
- MARQUES, L.T.; ZANELA, M.B.; RIBEIRO, M.E.R. et al. Ocorrência do leite instável ao álcool 76% e não ácido (LINA) e efeitos sobre os aspectos físico-químicos do leite. **Revista Brasileira de Agrocência**, v.13, n.1, p.91-97, 2007.
- MUHLBACH, P.R.F. Nutrição da vaca em lactação e a qualidade do leite. In: SIMPÓSIO DE BOVINOCULTURA DE LEITE, 1., 2003, Chapecó. **Anais...** Chapecó, 2003. p.25-43.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. Washington, DC: National Academy Press, 2001. 381p.
- OLIVEIRA, D.S.; MORAES, C.M.; ROOS, T.B. et al. Ocorrência da Síndrome do Leite Anormal no município de Santa Vitória do Palmar. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 29., 2002, Gramado. **Anais...** Gramado, outubro, 2002. (CD-ROM).
- RODRIGUES, C.M.; GABANA, A.D.A.; MÁLAGA, F. et al. Caracterização das unidades de produção leiteira (UPL) da região sul do Rio Grande do Sul. Parte 5: Perfil da propriedade. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPEL, 15., 2006, Pelotas. **Anais...** Pelotas: Universidade Federal de Pelotas [2006]. (CD-ROM).
- RODRIGUES, C.M.; MANZKE N.E.; GABANA, A.D.A. et al. Caracterização das Unidades de Produção Leiteira (UPL) da Região Sul do Rio Grande do Sul. Parte 4: Alimentação. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPEL, 15., 2006, Pelotas. **Anais...** Pelotas: Universidade Federal de Pelotas [2006]. (CD-ROM).
- ROMA JR., L.C.; ZAGO, C.A.; RODRIGUES, A.C.D. et al. Estudo da proteína do leite em termos de quantidade e qualidade. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2., 2006, Goiânia. **Anais....** Goiânia: Conselho Brasileiro de Qualidade do Leite [2006]. (CD-ROM).
- SCHALLIBAUM, M. Impact of SCC on the quality of fluid milk and cheese. In: ANNUAL MEETING NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 40., 2001, Reno. **Proceedings...** Madison: National Mastitis Council, 2001. p.38-46.
- SILVA, C.R.; LANA, R.P.; CAMPOS, J.M.S. et al. Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes e desempenho de vacas leiteiras em pastejo com dietas com diversos níveis de concentrado e proteína bruta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.7, p.1372-1380, 2009.
- SOBHANI, S.; VALIZADEH, R.; NASERIAN, A. Alcohol stability of milk and its relation to milk and blood composition in Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.85, suppl. 1, p.58, 1998.
- STATISTIC ANALYSIS SYSTEM - SAS. **SAS/STAT User's guide**. version 6, 8.ed. Cary: SAS Institute, 2001. 750p.
- STELZER, F.S.; LANA, R.O.; CAMPOS, J.M.S. et al. Desempenho de vacas leiteiras recebendo concentrado em diferentes níveis associados ou não a própolis. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.7, p.1381-1389, 2009.
- STELWAGEN, K.; HOPSTER, H.; Van Der WERF, J.T.N. et al. Short communication: effects of isolation stress on mammary tight junctions in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.48-51, 2000.
- STUMPF, W.J.; BITTENCOURT, D.; GOMES, J.F. et al. Sistema de produção de leite. In: BITTENCOURT, D.; PEGORARO, L.M.C.; GOMES, J.F. et al. (Eds.) **Sistemas de pecuária de leite: uma visão na região de clima temperado**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2000. p.30-60.
- TOTHILL, J.C.; HARGRAVES J.N.G.; JONES R.M. et al. BOTANAL – A comprehensive sampling and computing procedure for estimating pasture yield and composition. 1. Field sampling. **Tropical Agronomy Technical Memorandum**, v.78, n.24, p.9-15, 1992.
- TRONCO, V.M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. Santa Maria: Universidade de Santa Maria, 1997. 166p.
- WILDMAN, O.E.E.; JONES, G.M.; WAGNER, P.E. et al. A dairy condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Journal of Dairy Science**, v.65, n.3, p.495-501, 1982.
- ZANELA, M.B. **Caracterização do leite produzido no Rio Grande do sul, ocorrência e indução experimental do Leite Instável Não Ácido (LINA)**. 2004. 143f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/UFPEL, Pelotas.
- ZANELA, M.B.; RIBEIRO, M.E.R.; FISCHER, V. et al. Ocorrência do leite instável não ácido no noroeste do Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.4, p.1009-1013, 2009.