

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

AVALIAÇÃO METABÓLICA DE VACAS LEITEIRAS
ALIMENTADAS COM GRÃO DE SOJA CRU E TRATADO COM
CALOR.

Marilia de Faria Corrêa Celestino Alves

Porto Alegre
Agosto de 2001

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**AVALIAÇÃO METABÓLICA DE VACAS LEITEIRAS ALIMENTADAS
COM GRÃO DE SOJA CRU E TRATADO COM CALOR**
(METABOLIC EVALUATION OF DAIRY COWS FED HEAT TREATED OR
RAW SOYBEANS)

Marilia de Faria C. Celestino Alves
Dissertação apresentada como um dos
requisitos para a obtenção do grau de
Mestre em Ciências Veterinárias na Linha
de Patologia Animal.
Orientador: Dr. Félix H. D. González.

Porto Alegre
Rio Grande do Sul
2001

Dedico este trabalho ao meus pais. Eu amo vocês.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Félix H. D. González, pela orientação e conhecimentos transmitidos durante a execução deste trabalho.

Aos proprietários da granja São Francisco, Sr. Celso Sperotto e filhos pelo apoio e receptividade possibilitando a realização deste trabalho.

Ao doutorando e companheiro de trabalho, professor Nelcy Madruga de Carvalho, pela paciência, companheirismo e muitos conhecimentos passados.

Ao colega Tiago Conceição, pelo auxílio nas coletas de material.

À amiga Verônica Lima, pelo auxílio nas análises e determinação dos metabólitos.

Ao laboratório de Bioquímica Clínica da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

À doutora Vera Wald pela elaboração da análise estatística e auxílio na discussão dos resultados.

Às secretárias do Curso de Pós-Graduação, Carmen Lúcia B. Ribeiro, Vera Luiza M. S. da Rocha e Andréa A. F. Antunes pela colaboração e amizade.

À Comissão de Apoio a Pesquisa (CAPES), pela bolsa de estudos.

À colega Stella Faria Valle, pelo companheirismo e amizade.

Ao amigo médico veterinário Winston Luiz Rossato, pelo apoio e introdução ao Laboratório de Bioquímica da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Aos meus irmãos Ricardo e Marta pelo incentivo na realização deste trabalho.

Ao engenheiro agrônomo Diogo Palmeiro, pelo apoio, incentivo e carinho.

À minha família, por toda compreensão durante a execução deste trabalho.

Aos meus amigos que, de uma forma ou de outra, estiveram comigo durante esta fase da minha vida.

A todos, muito obrigado.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	6
LISTA DE FIGURAS	7
RESUMO	8
ABSTRACT	9
1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Proteína da soja	13
2.2 A soja tratada termicamente	16
2.3 O perfil metabólico	18
2.3.1 Componente nitrogenado do perfil metabólico	19
2.3.2 Componente energético do perfil metabólico	24
2.3.3 Indicadores da função hepática	26
2.3.4 Componente mineral do perfil metabólico	27
2.4 Proteína e uréia do leite	32
3 MATERIAL E MÉTODOS	37
3.1 Local e grupos de animais	37
3.2 Tratamentos	38
3.3 Período de coletas	43
3.4 Amostragens	44
3.5 Determinação dos metabólitos sanguíneos	45
3.6 Valores de referência dos metabólitos	45
3.7 Análise dos dados	46
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4.1 Caracterização da condição metabólica	47
4.1.1 Metabolismo nitrogenado	47
4.1.2 Metabolismo energético	51
4.1.3 Indicadores da função hepática	53
4.1.4 Metabolismo mineral	54
4.2 Relação da composição sanguínea com a proteína e uréia do leite	56
5 CONCLUSÕES	62
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
ANEXOS 1 (Tabelas dos metabólitos analisados)	68
ANEXOS 2 (Análises estatísticas)	77

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- Dados sobre os animais utilizados no experimento	38
TABELA 2- Composição da dieta do tratamento 1	40
TABELA 3- Composição da dieta do tratamento 2	41
TABELA 4- Composição da dieta do tratamento 3	42
TABELA 5- Composição da dieta do tratamento 4	43
TABELA 6- Valores de referência dos metabólitos estudados	46
TABELA 7- Valores médios e desvio padrão da concentração plasmática de albumina, globulinas e uréia dos 11 animais estudados nos tratamentos 1, 2, 3 e 4	49
TABELA 8- Valores médios e desvio padrão da concentração plasmática de glicose, beta-hidroxiacetato, colesterol e aspartato aminotransferase dos 11 animais estudados nos tratamentos 1, 2, 3 e 4	52
TABELA 9- Valores médios e desvio padrão da concentração plasmática de cálcio, fósforo e magnésio dos 11 animais estudados nos tratamentos 1, 2, 3 e 4	55
TABELA 10- Médias e desvio padrão da proteína do leite (%) das ordenhas da manhã e da tarde e das duas ordenhas, dos animais estudados nos tratamentos 1, 2, 3 e 4	57
TABELA 11- Médias e desvio padrão da uréia (mmol/l) das ordenhas da manhã e da tarde e média das duas ordenhas dos animais estudados nos tratamentos 1, 2, 3 e 4	60
TABELA 12- Coeficiente de correlação e valores de P, entre os valores de uréia do plasma e os valores de uréia do leite das ordenhas da manhã, da tarde e valores médios das duas ordenhas	61

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Variações de uréia plasmática nos quatro tratamentos	50
FIGURA 2. Variações de colesterol nos quatro tratamentos	53
FIGURA 3. Médias e desvio padrão de proteínas do leite nas ordenhas da manhã e da tarde nos quatro tratamentos	58
FIGURA 4. Médias e desvio padrão de uréia no leite nas ordenhas da manhã e da tarde nos quatro tratamentos	60

RESUMO

O grão e o farelo de soja vêm sendo utilizados como fonte protéica na alimentação de vacas leiteiras no Rio Grande do Sul. Entretanto, a elevada degradabilidade ruminal desta fonte, ao mesmo tempo que causa perda da qualidade intrínseca da proteína, leva a aumento da uréia plasmática, com conseqüências deletérias no metabolismo dos animais. O tratamento térmico do grão de soja pode superar essa limitação. Este trabalho teve como objetivo avaliar o metabolismo de vacas leiteiras alimentadas com grão de soja cru e tratado termicamente, através da análise do perfil metabólico no plasma e no leite. Foram utilizadas onze vacas da raça Holandesa, no terço médio da lactação, nas quais foram aplicados quatro tratamentos com fontes protéicas diferentes: concentrado protéico comercial, farelo de soja, grão de soja cru e grão de soja tostado. No plasma foram determinados componentes energéticos, protéicos, minerais e indicadores da função hepática. No leite foram dosados os teores de proteína e uréia. Não foram detectadas alterações hepáticas e nem na concentração de glicose, beta-hidroxibutirato, cálcio, fósforo e magnésio. Houve maiores níveis de colesterol plasmático nos animais consumindo grão de soja (cru e tratado com calor). As vacas consumindo soja tostada tiveram menor teor de uréia no plasma, sugerindo que o tratamento com calor no grão de soja foi efetivo para diminuir a degradação protéica no rúmen e melhorar a relação energia/proteína da ração.

ABSTRACT

Soybean and soybean meal are currently being used in Rio Grande do Sul, Brazil as a source of protein when feeding dairy cows. However, the high break down of this source in the rumen causes a loss of the intrinsic quality of the protein, as well as leading to an increase in plasmatic urea with deleterious consequences on the animals metabolism. Thermal treatment of soybean can overcome this limitation. The aim of this study was to evaluate the metabolism of dairy cows, fed on thermally treated soybean and raw soybean, through the analyses of the metabolic profile test of the plasma and milk analyses. Eleven Holstein cows in the mid lactation period were studied. Four treatments each with a different protein source were used on these cows. These were: commercial concentrated of protein, soybean meal, raw soybean and roasted soybean. In the plasma, energy, protein and mineral components were determined as well as indicators of hepatic function. In the milk, the levels of protein and urea were measured. No hepatic alterations were detected. There were also no alterations in the glucose, β -hidroxibutirate, calcium, phosphorus and magnesium concentration. There were larger levels of plasmatic cholesterol in the animals consuming both raw and thermally treated soybean. The cows consuming roasted soybean had a lower level of urea in the plasma, suggesting that the use of thermally treated soybean was effective in diminishing the break down of protein in the rumen and improving the energy/protein ratio of the ration.

1. INTRODUÇÃO.

O Brasil produz 19,7 bilhões de litros de leite por ano e contribui com 4,2% da produção mundial. A produção leiteira do Rio Grande do Sul cresceu 89% na década de 1990, com uma taxa média simples anual de 11,1%, observando-se, contudo, uma tendência acentuada de redução do número de produtores. O Estado possui 71.561 produtores de leite, dos quais 66,6% são pequenos produtores que produzem até 50 litros de leite/dia, equivalente a 30,2% da produção. O restante 34,4% dos produtores, que estão acima de 50 litros/dia, produzem 69,8% do total de leite do Estado (BITENCOURT et al., 1999).

Na balança comercial do Estado, o agronegócio participa com mais de 40% das exportações. Dentro deste contexto, as produções formal e informal de leite do Rio Grande do Sul na década de 1990, somaram mais de 15,9 bilhões de litros e transferiram ao setor produtivo rural cerca de 3 bilhões de reais, o que contribuiu de forma significativa para a renda agrícola de Estado e a manutenção do homem do campo (BITENCOURT et al., 1999).

Em nível nacional, pode-se dizer que o produtor gaúcho está relativamente organizado, sendo esta organização geralmente centralizada pelas empresas e cooperativas compradoras de leite. Por serem poucas as empresas que dominam determinadas regiões do Estado, a assistência técnica está muito relacionada a elas, devendo-se ressaltar a assistência prestada pela Empresa Brasileira de Assistência Técnica e Extensão Rural (EMATER).

Contudo, com o advento do MERCOSUL, os produtores de leite e da indústria de laticínios do Rio Grande do Sul enfrentam a concorrência de leite e derivados provenientes do Uruguai e da Argentina, lá produzidos com menor custo

de produção, decorrente da estrutura agrária menos pulverizada e clima mais propício à produção de forrageiras de melhor qualidade.

Nas pequenas e médias propriedades do Estado com limitação de área para a produção leiteira, o custo fixo relativamente alto de produção somente poderá ser reduzido pelo incremento na produtividade por vaca, o que necessariamente passará pela otimização da alimentação com alimentos concentrados, além do incremento na produção de plantas forrageiras de alta qualidade.

Os custos de alimentação de vacas leiteiras representam mais de 50% do custo total da atividade. A racionalização do fornecimento de alimentos, sem excessos ou faltas, é prioridade para obtenção de resultados favoráveis (GOTTSCHALL, 1999).

O grão de soja cru vem sendo utilizado como uma alternativa protéica na alimentação de ruminantes. Porém, devido ao fato das proteínas do grão de soja terem uma alta taxa de degradabilidade no rúmen, este emprego pode resultar em eventual perda de nitrogênio pela urina e sobrecarga hepática de amônia, podendo inclusive prejudicar o desempenho reprodutivo de vacas em produção.

Além disto, a inativação dos fatores anti-nutricionais presentes na soja pelo rúmen, não é totalmente eficiente, levando a uma diminuição da digestão intestinal da fração que escapa da degradação do rúmen (WESTWOOD et al., 1998).

Na tentativa de minimizar os danos causados por esta degradabilidade excessiva, tem surgido ultimamente o emprego do tratamento com calor nos grãos de soja (SHAVER, 1999). Desta maneira procura-se encontrar um nível de tratamento que torne as proteínas mais resistentes à degradabilidade ruminal sem perder a digestibilidade intestinal.

Com o avanço do melhoramento genético no gado bovino de leite, vem ocorrendo um aumento na incidência de doenças metabólicas causadas por desequilíbrios nutricionais, que repercutem negativamente sobre o desempenho produtivo e reprodutivo dos animais, acumulando perdas econômicas importantes. A exploração intensiva do gado leiteiro tem imposto severos esforços ao metabolismo destas vacas para obter o máximo de produção de leite com o mínimo de custos, condições que têm aumentado os problemas de enfermidades de produção (SANSON, 1973).

A principal consequência das doenças de produção é a deterioração do desempenho da fertilidade do rebanho e consequente perda econômica (PAYNE et al., 1970).

Falhas na alimentação concorrem não somente para limitar o potencial produtivo do animal, mas também podem ser causas de transtornos metabólicos, às vezes não muito evidentes, que são responsáveis por falhas na fertilidade das vacas.

Entre os transtornos metabólicos mais frequentes, de acordo com FAJARDO e VIAMONTE (1992), contam-se os seguintes: (a) distúrbios ácido-básicos provocados por acidose láctica, cetose, diarreia, excesso de uréia e subnutrição, entre outras causas; (b) disproteïnemias seja por consequência de baixa ingestão de proteínas ou por desequilíbrios energia/proteína, e (c) distúrbios causados por deficiências de minerais.

A maioria dos transtornos metabólicos podem ser detectados mediante o uso de perfis bioquímicos no sangue, nas épocas em que os animais estão mais susceptíveis, como por exemplo, na época do pós-parto. A aplicação dos perfis metabólicos sanguíneos, levando em conta as características do rebanho, a localização geográfica e o estado fisiológico dos animais, oferece uma importante ferramenta para detectar a tempo alguns distúrbios metabólicos, muitas vezes presentes em forma subclínica, que afetam a saúde, a fertilidade e a capacidade produtiva dos rebanhos (PAYNE e PAYNE, 1987).

O objetivo do presente trabalho é avaliar do ponto de vista metabólico-nutricional o efeito de um sistema de alimentação utilizando como fonte protéica grão de soja integral, cru e tratado termicamente, em vacas leiteiras sob condições de produção características do Estado do Rio Grande do Sul.

Especificamente, o trabalho pretende:

1. Estudar o *status* nutricional, mediante o uso do perfil metabólico, de vacas leiteiras alimentadas com grão de soja cru e tratado termicamente a 146 °C durante 2 minutos.
2. Inferir o efeito *by-pass* do tratamento térmico de grão de soja sobre o percentual de proteína e a concentração de uréia no leite.

2. REVISÃO DE LITERATURA.

2. 1 Proteína da soja.

Durante muitos anos, a proteína bruta era a única consideração em relação ao aporte de proteínas na formulação de dietas para os animais de produção. Tal consideração era fundamentada no fato de que todas as fontes nitrogenadas, consideradas de boa ou má qualidade, eram convertidas, em proteína microbiana sintetizada no rúmen (SANTOS et al., 1998).

A partir dos anos 1980, os nutricionistas observaram que, para as vacas de alta produção de leite (10.000 a 13.000 kg de leite por lactação), a proteína microbiana não supria as necessidades do animal fornecendo quantidades decrescentes do total de proteína necessária (aminoácidos essenciais) para a manutenção destes níveis de produção.

Mesmo assim é importante fornecer um montante adequado de proteína degradável no rúmen (PDR) mas sem excessos. Excessos de PDR são excretados pela urina, na forma de uréia, e potencialmente, podem se tornar um problema para o metabolismo do animal (DHIMAN e SATTER, 1997). Além da quantidade de proteína não degradável no rúmen (PNDR) a ser introduzida na dieta, deveria ser observada a qualidade desta PNDR oferecida, para que o montante de aminoácidos essenciais exigidos pelo animal fosse atingido.

Além disto, a formulação de dietas com o perfil de aminoácidos adequado pode reduzir a quantidade de proteína bruta da dieta, resultando em impacto econômico positivo (BACH et al., 2000).

Observou-se que em 97 comparações com vacas de alta produção, a proteína *by-pass** reduziu a produção de leite em 8 ocasiões, aumentou em 18, e não promoveu alteração em 71 casos. Nos casos positivos, a fonte de PNDR era principalmente farinha de peixe, rica em lisina e metionina, ou fontes de proteína de soja tratadas quimicamente ou com alta temperatura. A soja é uma boa fonte de lisina, porém é deficiente em metionina. Entretanto, a simples substituição total ou parcial do farelo de soja por fontes ricas em PNDR, não resulta em maior produção de leite, quando apenas o critério degradabilidade é considerado, sem que se façam os devidos ajustes em lisina e metionina (SANTOS e JUCHEM, 2000).

A maioria das fontes ricas em proteínas de baixa degradabilidade ruminal são deficientes em lisina e/ou metionina. Fontes *by-pass* de alta qualidade são principalmente a proteína da soja e a farinha de peixe. Esta última é de difícil utilização no Brasil em virtude da baixa qualidade do produto nacional e do alto custo do produto importado (SANTOS e JUCHEM, 2000).

Muitos procedimentos vem sendo aplicados para procurar reduzir a degradação protéica microbiana, tendo os resultados sucesso variável. Entre os procedimentos utilizados pode-se citar aqueles que utilizam calor, agentes químicos ou ambos (FALDET et al., 1991; NRC, 2001).

SANTOS et al. (1998), relatam algumas possíveis razões para ocorrerem falhas na resposta da suplementação com proteína não degradável no rúmen: (a) diminuição da síntese protéica microbiana no rúmen, (b) as fontes de PNDR utilizadas são deficientes em relação ao perfil de aminoácidos essenciais, (c) baixa digestibilidade das PNDR, e (d) as dietas controle dos experimentos comparativos apresentam elevados teores de PNDR.

* *By-pass* refere-se à proteína que não sofre degradação ruminal e chega no intestino apta para ser absorvida. O termo correto para a denominação desta proteína seria escape, uma vez que *by-pass* refere-se ao alimento que passa pela goteira esofágica de ruminantes lactantes.

Os produtos derivados da soja são suplementos alimentares comumente utilizados como fonte protéica na alimentação de ruminantes. Porém, a proteína do grão de soja cru ou aquela encontrada no farelo de soja é facilmente degradada pelos microorganismos do rúmen levando a uma perda da qualidade “natural” desta proteína, além da liberação de quantidades elevadas de produtos nitrogenados no rúmen (FALDET et al., 1991).

A qualidade e a quantidade da proteína do grão de soja é favorável para animais em lactação. Além disso, em função do conteúdo de gordura presente no grão, o uso da soja como componente de dietas para animais de produção difundiu-se rapidamente (TICE et al., 1993).

HONGERHOLT e MULLER (1998), realizaram experimento utilizando suplementos protéicos com valores elevados de PNDR para elevar a quantidade de proteína que escapa do rúmen e o montante de aminoácidos viáveis para absorção no intestino delgado. Estes autores observaram que os altos níveis de PNDR não alteraram significativamente a produção de leite e sua composição, nos animais utilizados no experimento. Entretanto, vacas múltiparas alimentadas com pastagens obtiveram aumento na produção de leite e na quantidade de proteína no leite, quando alimentadas com misturas de grãos com altos teores de PNDR.

Em trabalho realizado por TICE et al. (1993), ficou evidenciado que a soja tratada termicamente aumentou a produção de leite, mas não teve efeito na composição do leite, quando comparada com a soja crua.

Poucos autores encontraram benefícios no uso de dietas com altas concentrações de proteína ou PNDR no pré-parto. Entretanto, com o aumento da proteína na dieta, ocorre melhora no *status* de aminoácidos, o que pode estimular a remoção de ácidos graxos do fígado e aumentar a oxidação destes ácidos e, potencialmente, reduzir a incidência de fígado gorduroso e cetose (GARTHWAITE et al., 1998).

Por outro lado, HUYLEL et al. (1999), relatam que o aumento da ingestão de proteína não degradável durante o período seco da vaca, não afetou significativamente a produção e a composição do leite da lactação subsequente.

Segundo PUTNAM e VARGA (1997), a suplementação com proteínas no período seco (principalmente no final da gestação), pode aumentar a concentração de glicose e/ou aumentar a resposta do tecido adiposo à insulina, diminuindo a liberação de ácidos graxos não esterificados na circulação. Isto diminui o sequestro de gordura pelo fígado, reduzindo assim o risco de ocorrência de fígado gorduroso e cetose.

Estes autores ainda citam que o uso de aminoácidos como precursores gliconeogênicos pode servir para manter a oxidação hepática de ácidos graxos, levando a uma redução nas concentrações de gordura no fígado. A esta situação ainda pode ser somado o aumento das sínteses das lipoproteínas (VLDL) e sua exportação, evitando desta maneira a ocorrência de fígado gorduroso.

2.2 A soja tratada termicamente.

O tratamento mais utilizado para proteger a proteína da soja envolve a aplicação de calor, tanto diretamente como através de processos de peletização ou extrusão (STERN et al., 1985; MOSIMANYANA e MOWAT, 1992).

Animais alimentados com soja tostada, a qual é tratada para maximizar o aporte de lisina ao intestino, têm maior produção de leite principalmente no início da lactação, tendo estes animais a silagem de alfafa como única fonte de volumoso da dieta, em comparação com animais alimentados com farelo de soja e soja crua (FALDET e SATTER, 1991).

Segundo FALDET et al. (1991), o tratamento com calor talvez seja o de melhor resultado econômico.

O tratamento térmico cria pontes de ligação entre as cadeias de peptídeos e entre estas e os carboidratos (reação de Maillard), diminuindo desta maneira a degradabilidade da proteína no rúmen (REDDY e MORRILL, 1993; SHAVER, 1999).

VAN SOEST (1994), cita que o equilíbrio ótimo entre a desnaturação desejada e os efeitos deletérios provocados pelo calor ainda não estão completamente estabelecidos, mas teoricamente estão ao redor do ponto de máxima insolubilidade sem perder a digestibilidade a nível intestinal.

Além do benefício da proteção protéica, o calor tem sido utilizado para minimizar os fatores antinutricionais (entre eles os inibidores de tripsina, ureases e hemaglutininas) existentes no grão de soja cru e inteiro (REDDY e MORRILL, 1993).

A ocorrência de inibidores de tripsina na soja crua resultaram em menor ganho de peso, menor consumo de alimento e menor eficiência protéica, além do aumento de peso do pâncreas em ratos (ALDRICH et al., 1997).

A destruição dos fatores anti-tripsina é provavelmente responsável pelo aumento da digestibilidade, no intestino delgado de aminoácidos provenientes de grãos de soja tratados termicamente. A quantidade de proteína que alcança o intestino delgado é dependente do grau do tratamento térmico, e a digestibilidade máxima em nível intestinal também é dependente da aplicação correta do tratamento térmico para que ocorra a redução da atividade dos inibidores de proteína (HERKELMAN et al., 1992; ALDRICH et al., 1997).

Em trabalho realizado por HSU e SATTER (1995), foi evidenciado que o tratamento térmico ideal para os grãos de soja, visando o melhor aproveitamento pelo ruminante, seria de 146 °C, seguido por *steeping** de 30 minutos.

O período de permanência no *steeping* parece ser importante para que o calor penetre o mais profundamente possível no grão, protegendo desta forma, a maior quantidade possível de proteínas.

MOSIMANYANA e MOWAT (1992), também sugerem que o *steeping* dure em torno de 30 minutos. Em *steeping* com períodos de 1 hora ou mais, nenhum resultado adicional foi encontrado.

Segundo FALDET et al. (1992) o *steeping* por meia hora após a tostagem de 146°C, parece resultar em tratamento mais extenso e profundo do que aquele comumente encontrado em tostagens comerciais de soja e sendo benéfico principalmente por duas razões: (a) o tempo de permanência do grão da soja nos tostadores comerciais não é maior que 2 minutos e este período não é suficiente para que o calor seja transferido até o centro do grão; (b) a reação de Maillard, que é

* *Steeping* refere-se ao procedimento posterior à tostagem, onde os grãos são depositados em recipiente térmico por um determinado tempo, normalmente trinta minutos, para que o calor penetre o mais profundamente possível nos grãos. Uma vez que os processamentos térmicos comerciais são rápidos, em torno de dois minutos, o *steeping* faz-se necessário para que todas as proteínas existentes nos grãos recebam igualmente, o mesmo tratamento térmico.

causada pelo calor, depende do tempo para que ocorra da maneira correta e no grau certo para fornecer a proteção adequada às proteínas do grão.

A redução da absorção de aminoácidos no intestino delgado provenientes de proteínas da soja que sofreram um tratamento térmico exagerado, limita a reposta animal ao aumento da proteína que escapa da degradação ruminal (GRIFFIN et al., 1993).

KNAPP et al (1991), evidenciaram que o grão de soja tostado inteiro não interfere no consumo de matéria seca, níveis de gordura no leite ou na fermentação ruminal.

2.3 O perfil metabólico.

O teste do perfil metabólico foi desenvolvido inicialmente por PAYNE em Compton (Inglaterra) como método para estudar as causas da alta incidência de certas doenças que até então eram chamadas de doenças de produção (PAYNE et al., 1970).

O termo “perfil metabólico” se refere ao estudo de alguns componentes hemato-bioquímicos específicos que servem para avaliar, diagnosticar e prevenir transtornos metabólicos. O perfil metabólico também fornece informações valiosas com relação ao *status* nutricional do rebanho.

A avaliação clínica de rebanhos com problemas de produção pode ser complementada pela análise do perfil metabólico destes animais. As informações relacionadas a alimentação e ao manejo dos rebanhos devem sempre acompanhar a respectiva história clínica para uma correta interpretação dos resultados encontrados.

COTE e HOFF (1991) sugerem recolher informações relacionadas a idade, produção de leite, fase da lactação e condição corporal dos animais analisados.

Os componentes bioquímicos sanguíneos mais comumente determinados no perfil metabólico representam as principais vias metabólicas do organismo, das quais a glicose, o colesterol e o beta-hidroxibutirato representam o metabolismo energético, a uréia, a hemoglobina, as globulinas, a albumina e as proteínas totais representam o metabolismo protéico e o cálcio, o fósforo inorgânico, o magnésio, o

sódio e o potássio representam os macrominerais (WITTEWER e CONTRERAS, 1980). Adicionalmente são estudados metabólitos indicadores do funcionamento hepático tais como as enzimas AST (aspartato aminotransferase), GGT (gama-glutamilttransferase) e GDH (glutamato desidrogenase), bem como albumina e colesterol (GONZÁLEZ, 1997).

A concentração sanguínea de um determinado metabólito é indicador do volume de reservas de disponibilidade imediata. Essa concentração é mantida dentro de certos limites de variações fisiológicas, considerados como valores de referência ou valores normais. Os animais que apresentam níveis sanguíneos fora dos valores de referência são animais que podem estar em desequilíbrio nutricional ou com alguma alteração orgânica que condiciona uma diminuição na capacidade de utilização ou biotransformação dos nutrientes (WITTEWER, 1995).

Variações dos componentes do perfil metabólico sanguíneo em vacas leiteiras podem estimar o processo de adaptação metabólica a novas situações fisiológicas ou de alimentação. Transtornos como cetose ou desequilíbrios no nitrogênio ou no metabolismo mineral podem ser detectados através da análise direta do perfil metabólico (PAYNE & PAYNE, 1987).

2.3.1 Componente nitrogenado do perfil metabólico.

Para a determinação do *status* protéico de um rebanho leiteiro devem ser medidos a uréia, a albumina, as globulinas, a hemoglobina e as proteínas totais (PAYNE & PAYNE, 1987).

A uréia sanguínea pode fornecer um reconhecimento a curto prazo da ingesta de componentes nitrogenados no organismo animal, sejam eles protéicos ou não (PAYNE & PAYNE, 1987).

No rúmen, os componentes nitrogenados da dieta são convertidos em amônia por ação das enzimas bacterianas. Esta amônia é utilizada pela microflora para a produção de aminoácidos, juntamente com o esqueleto carbonado oferecido pelos carboidratos da dieta. A amônia que não é utilizada pela flora ruminal passa rapidamente para o sangue, através da parede deste órgão, e vai ao fígado onde se

processa a formação de uréia. Esta, por sua vez, sendo não tóxica e hidrossolúvel, circula no sangue e é eliminada principalmente na urina e no leite ou reciclada para o rúmen via salivar ou por difusão na parede deste (CHURCH, 1988).

A diminuição da ingestão de energia influi inversamente na concentração de amônia ruminal devido à redução da síntese protéica microbiana, elevando a concentração de uréia sanguínea (GARCIA, 1997; WITTWER, 2000a).

WITTWER (2000a), lembra que a excreção de N representa um gasto em energia para o animal, sendo que o aumento na produção de amônia e uréia não somente reduz o apetite, mas também a eficiência produtiva.

O excesso de proteína degradável no rúmen, leva ao excesso de NH_3 que pode afetar os valores de energia disponível para o animal. Nos rins, músculos e cérebro, o ácido glutâmico reage com a NH_3 para formar glutamina. A fonte imediata de ácido glutâmico é o α -cetoglutarato, um composto intermediário do ciclo do ácido cítrico, o qual é essencial para a formação de energia no animal. Se a demanda de α -cetoglutarato é alta em função da grande quantidade de NH_3 circulante, o ciclo do ácido cítrico pode ficar comprometido e conseqüentemente, a gliconeogênese comprometida (GARCIA-BOJALIL et al., 1998).

A concentração de uréia sanguínea tem sido empregada nos perfis metabólicos como um indicador da atividade metabólica protéica dos animais. Isto se baseia no fato de que a uréia é sintetizada no fígado em quantidades proporcionais à concentração de amônia produzida no rúmen e sua concentração sanguínea está diretamente relacionada com os níveis protéicos da ração e da relação energia/proteína da dieta (WITTWER et al., 1993; GARCIA, 1997).

O equilíbrio energia/proteína na dieta de ruminantes é fundamental para o bom aproveitamento da uréia. Alterações na dieta, sazonais ou mesmo diárias, influenciam os níveis de uréia no sangue e o seu bom aproveitamento pelo animal.

Dietas que contêm uma maior quantidade de proteínas fermentáveis estão associadas com concentrações maiores de amônia no rúmen do que aquelas com proteínas de degradação mais lenta. Estes animais apresentam teores elevados de uréia no sangue (HOF et al., 1997).

ELROD e BUTLER (1993); GARCIA (1997); GONZALEZ e ROCHA (1998); BUTLER (1998), citam que níveis elevados de uréia sanguínea podem estar

relacionados diretamente com a redução da eficiência reprodutiva, enquanto que WHITAKER (1998), relaciona os baixos níveis de eficiência reprodutiva com *status* energético negativo.

Suspeita-se da relação de altos níveis de proteína facilmente degradável com baixo desempenho reprodutivo pelo efeito direto da uréia sobre o meio uterino, bem como por produzirem um desequilíbrio energético, devido ao gasto de ATP em transformar amônia em uréia no tecido hepático (MOORE e VARGA, 1996). Um excesso de proteína na dieta elevaria os níveis de uréia e amônia no organismo elevando assim, os níveis de pH do trato genital, ocorrendo em consequência a morte dos espermatozoides e queda da fertilidade.

A concentração de uréia no sangue pode sofrer alterações passageiras durante o dia, principalmente após a alimentação. A rápida fermentação, seguida da absorção de amônia eleva a uréia após este período (GARCIA, 1997).

Fisiologicamente, ocorrem aumentos dos níveis de uréia sanguínea no fim da gestação que diminuem pouco antes e logo após o parto, mesmo em vacas com adequado teor de proteína na dieta (GONZÁLEZ, 1997).

Por outro lado, animais desidratados diminuem o fluxo de urina e conseqüentemente apresentam elevada concentração de uréia sanguínea.

WITTWER (1995) relata que, no Chile, a alimentação da primavera está associada com aumento do nível de uréia sanguínea, especialmente em vacas antes do parto, devido ao maior conteúdo nitrogenado dos pastos nesta época do ano. Ocasionalmente, baixas concentrações de albumina e uréia podem ocorrer na ausência de uma deficiência protéica evidente. Uma explicação para este fato é a degradação de proteínas facilmente digeríveis no rúmen, ocorrendo ineficiente utilização ou perda.

O excesso de amônia transformada em uréia pode danificar o metabolismo intermediário e influir nas concentrações de glicose, lactato e ácidos graxos livres no sangue e na funcionalidade do corpo lúteo, além de ocasionar uma diminuição da capacidade imunogênica dos macrófagos e da linha branca (WITTWER 2000a).

As proteínas sanguíneas são sintetizadas principalmente pelo fígado, sendo que sua taxa de síntese está diretamente relacionada com o estado nutricional do animal, especialmente com os níveis de proteínas e de vitamina A e com a

funcionalidade hepática (PAYNE e PAYNE, 1987). A diminuição das proteínas totais no plasma está relacionada com falhas hepáticas, transtornos renais e intestinais, hemorragias ou por deficiência na alimentação. Calcula-se que dietas com menos de 10% de proteína causam diminuição dos níveis protéicos no sangue (KANEKO et al., 1997).

GONZÁLEZ et al. (1996), relata que no sul do Brasil o inverno foi responsável pelo aumento de proteínas totais plasmáticas, em função do aumento de globulinas, simultaneamente com menores níveis de uréia e de fósforo.

Em geral, o índice de proteínas totais é de pouco valor para avaliar o *status* nutricional protéico. Entretanto, o nível de albumina pode ser indicador do conteúdo de proteína na alimentação, apesar de que suas mudanças no sangue ocorram lentamente. Para detectar mudanças significativas na concentração de albumina é necessário um período de pelo menos um mês, devido a baixa velocidade de síntese e de degradação desta proteína no ruminante (PAYNE e PAYNE, 1987).

A albumina é sintetizada no fígado e representa 50% a 65% do total de proteínas do plasma. Ela contribui com 80% da osmolaridade do plasma sangüíneo, constituindo também uma importante reserva protéica, bem como um transportador de ácidos graxos livres, aminoácidos, metais e bilirrubina. A albumina também tem uma função importante na regulação do pH sangüíneo.

A concentração sangüínea de albumina pode ser afetada pelo funcionamento hepático, a disponibilidade de aminoácidos (aporte protéico na ração) e perdas durante doenças, como por exemplo parasitismo gastrointestinal.

Segundo CONTRERAS (2000), observa-se, em gado de corte, diminuição nas concentrações sanguíneas de albumina, hemoglobina e hematócrito, especialmente durante o período de crescimento, quando o gado é mantido em pastagens de baixas concentrações de proteínas, por um período de aproximadamente 4 meses.

Quando a dieta é deficiente em proteínas, ocorre uma diminuição de albumina que persiste por 2-3 meses no pós-parto, sendo que alguns autores sustentam que não só a deficiência de proteínas na dieta, mas a demanda de aminoácidos para a síntese de proteína no leite, reduz a síntese de outras proteínas e por isto as concentrações de albumina e hemoglobina diminuem na medida em que a lactação avança.

Outros autores afirmam que a diminuição das concentrações de albumina é produzida pela redução da capacidade de síntese no fígado, devido ao acúmulo de gordura que este órgão sofre no início da lactação (CONTRERAS, 2000).

Nos rebanhos em que as concentrações de albumina estão dentro do intervalo de referência por volta das 10 semanas pós-parto, observa-se uma maior produção de leite no período da lactação e melhor fertilidade que nos rebanhos em que estas concentrações se mantêm diminuídas (CONTRERAS, 2000).

Baixas concentrações de albumina estão associadas com baixa produção de leite não somente em quantidade, mas também em qualidade, com baixo teor de sólidos não gordurosos (PAYNE & PAYNE, 1987).

Os níveis de albuminas são positivamente relacionados com a performance produtiva e reprodutiva (PAYNE & PAYNE, 1987; GONZÁLEZ et al., 1997). Este conceito está de acordo com os achados de GONZÁLEZ e ROCHA (1998) em trabalho realizado no sul do Brasil com 4 rebanhos leiteiros. Neste trabalho foram observados níveis mais elevados de albumina nas vacas de melhor produção leiteira. Também foi evidenciado por estes autores que vacas lactantes apresentam níveis mais elevados de colesterol, proteínas totais, globulinas e uréia, quando comparadas com vacas secas.

As globulinas estão relacionadas, por sua vez, com as condições imunológicas do organismo. Concentrações elevadas de globulinas podem ser observadas logo após o desencadeamento de uma infecção (PAYNE e PAYNE, 1987).

GONZÁLEZ E ROCHA (1998) atribuíram a processos inflamatórios, como mastites ou endometrites, o aumento (23,3% a mais do que vacas secas) nos níveis de globulinas de vacas lactantes.

As globulinas aumentam com a idade, fator atribuído à maior “experiência” imunológica, ao passo que a albumina declina (PAYNE & PAYNE, 1987).

MARCOS (1982), cita que vários autores associam níveis elevados de globulinas a altas concentrações de lipídios na circulação. O mesmo autor, observou duas grandes quedas nos valores de globulinas em vacas leiteiras argentinas: a primeira um mês antes do parto e a segunda no final do parto.

2.3.2 Componente energético do perfil metabólico.

Os corpos cetônicos, β -hidroxibutirato (β HB) e acetoacetato, são fontes de energia na ausência de glicídeos e lipídeos nos ruminantes. Seus precursores são os lipídeos e os ácidos graxos da dieta, bem como os depósitos de gordura do animal. O ácido butírico produzido no rúmen é transformado no epitélio dos pré-estômagos, via acetoacetato, em β HB, sendo este o principal corpo cetônico do sangue do ruminante normal (WITTWER, 2000a).

Os ácidos graxos de cadeia longa, produzidos na mobilização de reservas de gordura, são convertidos no fígado em acetoacetato e depois em β HB, o qual pode ser utilizado como fonte de energia e na síntese de gordura no leite. A cetose, doença metabólica dos ruminantes, é causada quando a produção de corpos cetônicos é maior que a sua utilização, quando existe um déficit de energia (oxalacetato no ciclo de Krebs), em decorrência da alta demanda da glicose para produzir lactose (WITTWER, 2000a).

O limite máximo fisiológico de corpos cetônicos no leite não está estabelecido, embora seja conhecido que este fluido tem uma concentração equivalente a 10-20% do sangue (WITTWER, 2000a).

Segundo WITTWER (2000a), o diagnóstico de cetose foi baseado por anos na determinação dos corpos cetônicos em amostras de urina, leite ou sangue mediante o teste de Rothera, método que tem um nível de detecção superior a 1mmol/L. Esta prova reage principalmente com a acetona e o acetoacetato e, em menor grau com β HB. Atualmente, é utilizada com bastante sucesso nos perfis metabólicos a determinação de β HB em amostras de sangue, técnica que tem um nível de detecção de 0,1 mmol/L, considerando-se como valor máximo aceitável de 0,5 mmol/L, salvo em vacas no início da lactação, nas quais se aceita até 0,8 mmol/L.

Relacionam-se os aumentos na concentração de ácidos graxos não esterificados (AGNE) e β HB com o acúmulo de triglicerídeos no fígado, aumentando o risco da incidência de fígado gorduroso no início da lactação. Geralmente, a elevação de AGNE e corpos cetônicos é coincidente com uma hipoglicemia. Um fator que tem sido considerado fundamental para o desenvolvimento desta

enfermidade é a diminuição do consumo de matéria seca (CMS), que é acentuado pela mudança hormonal que ocorre no fim da gestação e início da lactação. Com a ocorrência de fígado gorduroso, a gliconeogênese fica comprometida (MARQUEZ & RADEMACHER, 1999).

O colesterol é armazenado nos tecidos na forma de ésteres de colesterol sendo o precursor dos esteróides do organismo, como corticoesteróides, hormônios sexuais, ácidos biliares e vitamina D.

Aproximadamente 50% do colesterol se origina no fígado, 15% no intestino e uma grande proporção do restante na pele. A síntese ocorre a partir do acetil-CoA, que por sua vez, provém do ácido acético produzido no rúmen pela fermentação da fibra da dieta, dependendo do estado nutricional (KANEKO, 1989).

Vacas lactantes no Chile tiveram valores de colesterol 27,4% maior do que vacas secas e prenhes (WITTEWER et al., 1987), o que foi relacionado com a grande demanda energética na lactação e o consumo deficiente de energia resultando na mobilização lipídica.

Em trabalho realizado por GONZÁLEZ e ROCHA (1998), os níveis de colesterol de vacas lactantes foi 39% maior do que os níveis de vacas secas. Por estes achados, os autores sugerem o uso de valores de referência distintos para animais em pré e pós-parto.

Valores elevados de colesterol em animais de alta produção sugerem que este metabólito possa ser um indicador da habilidade da vaca em produzir leite, como reflexo da mobilização lipídica das reservas corporais para lactogênese (GONZÁLEZ e ROCHA, 1998).

A determinação da glicose no sangue tem sido utilizada como um dos meios para se estabelecer desordens nutricionais e metabólicas, porém se tem observado que em alguns casos não ocorrem mudanças significativas nos resultados depois de serem realizados ajustes na ração (PAYNE et al., 1970). Este mesmos autores afirmam também que a hipoglicemia observada em alguns rebanhos não cursava com sinais clínicos evidentes nos animais.

Nos ruminantes, a principal fonte de glicose é o ácido propiônico seguido por aminoácidos e lipídeos (VAN SOEST, 1994).

A glicemia é regulada por um complexo e eficiente sistema endócrino, que inclui a insulina, hormônio que estimula a captação de glicose pelos tecidos, o glucagon e as catecolaminas que estimulam a degradação do glicogênio e os corticoesteróides que são promotores da gliconeogênese. A somatotropina diminui a oxidação da glicose a nível tissular para permitir que esteja disponível para o úbere, incrementando desta forma a produção de leite (MARQUEZ & RADEMACHER, 1999).

Este controle hormonal faz com que a determinação de glicose ofereça pouca utilidade como indicador do metabolismo energético (PAYNE & PAYNE, 1987). Em função disto, a dieta tem pouco efeito sobre a glicemia, enquanto não ocorrerem deficiências ou excessos drásticos de energia (GONZÁLEZ, 1997).

Entretanto, podem-se encontrar animais hipoglicêmicos, principalmente no início da lactação, uma vez que estes animais podem não estar aptos a enfrentar o déficit energético que ocorre neste período (PAYNE & PAYNE, 1987).

A hipoglicemia acompanhada de mobilização de reservas de gordura, é indicador do desequilíbrio energético que ocorre no início da lactação. Normalmente a hipoglicemia é mais pronunciada nas primeiras semanas de lactação, logo em seguida retorna aos valores normais, como consequência do aumento do consumo de alimentos e da ação hormonal no pós-parto, no sentido de estimular a gliconeogênese (MARQUEZ & RADEMACHER, 1999).

2.3.3 Indicadores da função hepática.

Entre os indicadores usados no perfil metabólico para avaliar a função hepática em bovinos estão a enzima aspartato-aminotransferase (AST), a albumina e o colesterol (PAYNE e PAYNE, 1987).

A elevação desta enzima no plasma depende de uma série de fatores que incluem o tamanho molecular, localização intracelular, taxa de aparecimento no plasma, taxa de inativação enzimática e, em alguns casos (fosfatase alcalina e gama glutamil transpeptidase), aumento da produção hepática (TENNANT, 1997).

Na ocorrência de necrose hepática, estão presentes em concentrações elevadas as enzimas alanina aminotransferase (ALT), ornitina carbamoiltransferase

(OCT), aspartato aminotransferase (AST), desidrogenase glutâmica (GD), sorbitol desidrogenase (SDH) e arginase.

A enzima AST vem sendo utilizada em ruminantes como indicador de desordem hepáticas e musculares (KANEKO et al., 1997).

Níveis de aminotransferases (AST e ALT) muito elevados sugerem hepatite aguda, mas elevações mais moderadas da atividade destas enzimas podem ser detectadas em diversas enfermidades hepáticas como doenças hepatocelulares crônicas, cirrose, hepatopatias parasitárias e neoplasias metastáticas ou primárias (TENNANT, 1997).

Em vacas lactantes é comum observar-se lesões hepáticas como consequência da grande mobilização lipídica, principalmente em vacas de alta produção e após 3 ou mais lactações.

GONZÁLEZ e ROCHA (1998), encontraram níveis elevados de AST em vacas de alta produção, concordando com o conceito anterior.

Uma diminuição da concentração plasmática de colesterol estaria evidenciando alterações hepáticas ou um déficit energético, pelo qual estas análises devem acompanhar a determinação da atividade da AST (MARQUEZ & RADEMACHER, 1999).

2.3.4 Componente mineral do perfil metabólico.

As deficiências de minerais podem ser estudadas a partir da análise do solo e da forragem onde os animais estão localizados. Porém devido a variações nas disponibilidades e as interferências dos diferentes minerais, o diagnóstico de deficiência mineral no animal deve preferencialmente ser abordado a partir da análise de fluídos, principalmente sangue e urina, para obter uma idéia mais aproximada do balanço metabólico de um determinado mineral (GONZÁLEZ, 2000).

O periparto da vaca leiteira de alta produção, em especial o período que tem sido denominado de “vaca em transição” (3 semanas pré-parto a 3 semanas pós-parto), se caracteriza por mudanças súbitas endocrinológicas e nutricionais que obrigam a uma redistribuição de nutrientes mediante a ativação dos mecanismos

homeoréticos de dois eixos: o relacionado com o metabolismo da proteína e de energia e aquele envolvido com a manutenção da concentração sanguínea de vários minerais, em especial o cálcio (Ca), fósforo (P) e magnésio (Mg).

O firme controle endócrino do cálcio, faz com que seus níveis variem muito pouco e, portanto, o nível sanguíneo de Ca não é bom indicador do estado nutricional, enquanto que os níveis de fósforo e magnésio refletem melhor o balanço nutricional com relação a estes minerais (GONZÁLEZ, 2000).

A hipocalcemia é frequente nas vacas leiteiras de alta produção, podendo causar febre do leite e paresia do parto enfermidade metabólico nutricional caracterizada por um momentâneo desequilíbrio na regulação da concentração de Ca no sangue em torno das 48 horas anteriores ao parto e seguindo até as 72 horas de pós-parto. Não é uma deficiência verdadeira do cátion, mas um aprofundamento em intensidade e duração da hipocalcemia fisiológica que toda vaca de alto potencial genético de produção sofre ao parto e se reflete na necessidade de uma mudança brusca no fluxo de cálcio através dos distintos compartimentos aonde atua este mineral (CORBELLINI, 1998).

Segundo este mesmo autor, uma boa alimentação energético-protéica no pré-parto, principalmente com ganhos em reservas corporais nos últimos 50-60 dias de gestação, predisõem o animal à ocorrência da enfermidade, porque a secreção inicial de colostro é mais abundante.

A febre do leite ocasiona perdas econômicas importantes, fundamentalmente devido aos custos dos tratamentos, as mortes e as complicações secundárias como a atonia ruminal e falta de apetite, mastite clínica, retenção de placenta, metrites, degeneração e necrose das células musculares (principalmente do trem posterior) e pneumonia por aspiração (CORBELLINI, 1998).

A quantidade total de cálcio em uma vaca adulta está em torno de 6.000 g, 90% dos quais armazenados nos ossos. Cerca de 1% (60g) está no sangue e nos tecidos moles, sendo que na corrente circulatória há cerca de 8g. Uma vaca que produza 30kg de leite perde diariamente cerca de 36g de cálcio, isto é, mais de 4 vezes a quantidade cálcio sanguíneo. Estima-se que durante o período de uma lactação, cerca de 18% do mineral do esqueleto é perdido (GONZÁLEZ, 2000).

Segundo BREVES et al. (1995), as vacas ao parto não estão aptas a utilizar as reservas ósseas de Ca ou estimular os mecanismos gastrointestinais de absorção deste mineral, ficando sujeitas a uma grave hipocalcemia até que ocorra a certa ativação destes mecanismos, o que pode levar alguns dias.

Estes mesmos autores sugerem que dietas baixas em Ca (< 20g Ca/d) durante as últimas semanas de gestação, seguidas de uma dieta de lactação alta em Ca após o parto, reduz dramaticamente a incidência de hipocalcemia puerperal (HP). A ingestão de dietas com pouco cálcio, leva o animal ao balanço negativo deste mineral, estimulando o PTH e a produção de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (metabólito ativo da vitamina D). Presume-se que a alcalose metabólica, estimulada por excessos de Ca em dietas pré-parto, quebre a integridade dos receptores de PTH nos tecidos alvo.

Dietas aniônicas no pré-parto servem para estimular a resposta dos tecidos alvo ao PTH, que por sua vez controla a enzima renal 1-hidroxilase e a resorção de Ca ósseo, permitindo à vaca adaptar-se a lactação (BREVES et al., 1995).

É importante frizar que esta técnica requer um cuidado especial, exigindo análises frequentes dos ingredientes da dieta, mistura muito bem feita e de difícil utilização em propriedades que não adotam o uso de ração completa (SANTOS e JUCHEN, 2000).

Dentre os minerais essenciais à dieta dos animais, o fósforo (P) ocupa uma posição destacada em razão das múltiplas e importantes funções que o elemento desempenha no corpo do animal e de sua deficiência generalizada nos solos e forrageiras tropicais, além do elevado custo que representa sua suplementação.

Cerca de 2/3 ou mais do P nos grãos e subprodutos destes, farinhas ou farelos de oleaginosas está ligado na forma de fitatos. Graças a atividade das fitases dos microorganismos ruminais o P destas fontes está disponível para a absorção nos ruminantes (NRC, 2001).

O fósforo circulante no organismo de ruminantes está tanto na forma orgânica como na inorgânica, predominando a forma inorgânica numa relação de 4:1, sendo que esta forma está presente principalmente no plasma e predominantemente ionizado. Nos eritrócitos, o P está ligado na forma de éster (BARCELLOS, 1998).

O interesse principal do perfil metabólico está no P inorgânico que se apresenta no plasma. A manutenção dos níveis de P no sangue é controlada

parcialmente pelos mesmos fatores que promovem a assimilação do Ca (GONZÁLEZ, 2000).

A concentração de P no corpo do animal pode variar devido a alterações fisiológicas como lactação, prenhez, deficiências nutricionais em proteínas e minerais.

Os níveis de P também são influenciados pela reciclagem via salivar e sua absorção no rúmen e intestino (homeostase do P no organismo).

Aumento do consumo de P na dieta, aumenta o P no sangue, o que tem um efeito inibitório direto nas enzimas renais que catalisam a produção de vitamina D. A redução de produção deste metabólito da vitamina D, leva a redução da absorção gastrointestinal de Ca (BREVES et al., 1995).

As hipofosfatemias são observadas em dietas deficientes deste mineral, mais comumente em solos com deficiência de P, principalmente durante o outono e o inverno e em vacas de alta produção. Um fator determinante para caracterizar a deficiência é a resposta favorável no desempenho animal frente à suplementação com fontes de P (BARCELLOS, 1998).

Segundo TOKARNIA et al.(1988), a deficiência de P é a deficiência mineral mais importante em bovinos no Brasil, sendo que o botulismo epizoótico já foi descrito no município de Alegrete, no RS.

Não existe controle homeostático do Mg, sendo que sua concentração sanguínea reflete diretamente o nível da dieta. O controle renal de Mg está mais direcionado para prevenir a hipermagnesemia, mediante a excreção do excesso de Mg pela urina. Diante de uma deficiência de Mg, seus níveis na urina caem a praticamente zero. Assim, os níveis de Mg na urina são indicadores da ingestão do mineral nos alimentos (GONZÁLEZ, 2000).

A hipomagnesemia tem sérias consequências para os ruminantes podendo levar a morte, já a hipermagnesemia não causa maior transtorno. A tetania hipomagnesêmica constitui uma doença de produção, geralmente causada pela baixa ingestão de Mg na dieta.

A hipomagnesemia também pode ser consequência de uma excessiva lipólise em decorrência de uma deficiência de energia. Várias enzimas envolvidas na

mobilização do tecido adiposo requerem o Mg como cofator, estimulando a mobilização deste no plasma.

O nível de Mg no perfil metabólico pode indicar estados subclínicos antes de surgir o problema, sendo especialmente útil antes do parto para evitar problemas de tetania no pós-parto, geralmente complicados com febre do leite (GONZÁLEZ, 2000).

O Mg está mais disponível em pastagens secas e concentrados do que pastos frescos. Pastagens novas com altos níveis de proteína e K inibem a absorção de Mg.

WITTWER et al. (1997), citam que no sul do Chile, 38% dos decúbitos de origem metabólica cursaram com hipomagnesemia.

CORBELLINI (1998), ainda sugere que a hipomagnesemia apresenta-se quando a concentração plasmática de Mg é inferior a 0,41 mmol/l, devido a:

- (a) insuficiente aporte de Mg na dieta (a concentração de mg nas pastagens de gramíneas é inferior a 0,15% da MS);
- (b) deficiência de energia, principalmente com carboidratos solúveis no rúmen;
- (c) dificuldade de absorção do Mg pela mucosa ruminal devido a características da dieta (altos teores de K e proteína solúvel ou nitrogênio não protéico, baixas concentrações de Na nos rebrotes de gramíneas).
- (d) situações de stress (temporais, alterações bruscas de temperatura, movimentação excessiva de animais com gestação avançada).

A definição para uma estratégia de controle para a hipomagnesemia é necessária para evitar as perdas econômicas que provoca. As estratégias de suplementação que a literatura indica, são mais fáceis de utilizar em vacas leiteiras, já que é possível ter acesso aos animais pelo menos duas vezes ao dia, no momento das ordenhas, podendo-se administrar até mesmo individualmente, via oral, soluções de Mg (WITTWER et al., 1997).

2.4 Proteína e uréia do leite.

O leite de vacas é composto por 87% de água e 13% de matéria seca ou compostos sólidos constituídos por: lactose, gordura, proteína, minerais e vitaminas.

Exceto para a albumina e imunoglobulinas que são sintetizadas fora da glândula mamária e transportadas pela corrente sanguínea até as células secretoras, as proteínas do leite são sintetizadas nas células alveolares, a partir de aminoácidos do sangue. Alguns aminoácidos são chamados de essenciais, pois necessitam vir do sangue (metionina, fenilalanina, leucina, treonina, lisina, arginina, isoleucina, histidina, valina), enquanto outros são não-essenciais, pois podem ser produzidos pelas próprias células secretoras.

O mercado consumidor associado com o aproveitamento do leite do ponto de vista industrial, para a produção de queijos, prefere o produto com maiores teores de proteína e menores em gordura.

A caseína representa cerca de 80% da proteína presente no leite, sendo secretada pelas células alveolares na forma de micelas, que são agrupamentos de várias moléculas de caseína ligadas a íons como fosfato de cálcio. Normalmente, a caseína não é afetada pela pasteurização, permanecendo estável. Entretanto, quando há acidificação do leite, ocorre a desnaturação das micelas de caseína e formação de coágulo. As proteínas do soro do leite são aquelas que estão solúveis na água presente no leite, diferentemente da caseína, que se encontra em suspensão na forma de micelas (FONSECA e SANTOS, 2000).

Portanto, a matéria nitrogenada do leite se divide em porção protéica (95%) e não protéica (5%). Da porção protéica, a caseína representa a maior parte (78%) e as proteínas do soro representam o restante (albuminas 9,2% e globulinas 3,3%). Da fração nitrogenada não protéica, a uréia representa o maior conteúdo, seguida da creatinina, ácido úrico, vitaminas, fosfolípídeos e amônia.

O polimorfismo das proteínas do leite (α -, β -, κ -caseínas, α -, β -lactoalbumina) influenciam na acidez titulável do leite. Alterações dessa natureza são comuns em rebanhos Holandês e estão geralmente relacionados à presença de animais com baixa acidez titulável, e portanto, lenta formação do coágulo durante o processo de formação de queijos (RODRIGUES, 2000).

Ao se analisar o teor de proteína bruta do leite, pelo método de Kjeldahl é contabilizada tanto a proteína verdadeira quanto o nitrogênio não protéico (NNP). Portanto, é preciso ter cuidado ao se analisar aumentos de proteína bruta do leite, uma vez que, caso este aumento seja em função do NNP, não haverá elevação do rendimento industrial, que só ocorre se a caseína aumentar (CARVALHO, 2000).

Existem diversos fatores que interferem na produção de proteína do leite. Destes, os fatores inerentes ao animal são a fase de lactação, número de lactações e sanidade do úbere. Em relação à fase de lactação, as menores concentrações de proteína no leite são registradas durante os três primeiros meses, aumentando progressivamente a medida que evolui a lactação, seguindo uma tendência contrária à produção diária (GALLARDO et al., 1996).

Fatores dependentes do manejo e do ambiente, como o stress térmico, podem também interferir nos teores de proteína no leite. Durante o verão, os valores de proteína no leite chegam aos seus níveis mais baixos.

Entre os fatores que afetam a proteína do leite estão os aminoácidos disponíveis para tal atividade. O mecanismo que envolve o a síntese de proteína pela glândula mamária, está relacionado com a provisão de aminoácidos essenciais e dentro destes, os limitantes. Caso algum aminoácido esteja faltando, toda a cadeia protéica da qual este faz parte deixará de ser produzida. Caso haja correção na quantidade fornecida deste aminoácido limitante, possivelmente a produção de proteína do leite ficará limitada por outro aminoácido. Como as proteínas são constituídas por inúmeros aminoácidos, fica claro que dificilmente se terá uma situação na qual não haja limitação de algum aminoácido, daí a dificuldade em se elevar a proteína do leite.

Sabe-se hoje que os aminoácidos limitantes ou co-limitantes para a produção de leite e de proteína do leite são a lisina e metionina e que o importante é que exista um balanço entre as quantidades dos dois em relação aos demais aminoácidos essenciais (BAKER et al., 1996; WRIGHT et al., 1998; SANTOS et al., 1998; OVERTON e CHASE, 1999; BACH et al., 2000).

A proporção aproximada ideal de lisina e metionina parece ser a de 3 partes de lisina para 1 parte de metionina, ou ainda 15% de lisina em relação aos aminoácidos essenciais e 5% de metionina (CARVALHO, 2000). Acredita-se que os

outros aminoácidos limitantes sejam a arginina, fenilalanina, isoleucina e leucina (BACH et al., 2000).

A proteína microbiana é outro fator que influencia na produção de proteína do leite, pois ela apresenta a composição mais próxima da proteína do leite e perfaz 60 a 75% da proteína absorvida pelo animal, sendo o restante de origem da dieta ou endógena.

A maximização da produção de proteína microbiana parte de uma estratégia de dieta bem equilibrada na relação energia:proteína, sendo constituída por concentrado e volumoso de qualidade.

Adicionando-se grãos à dieta (no concentrado), ocorre a maior formação de ácido propiônico o que, aparentemente leva a uma maior disponibilidade de certos aminoácidos que podem ser limitantes, especialmente o ácido glutâmico, sempre respeitando-se o limite da ocorrência de acidose.

A utilização de proteína *bypass* com o objetivo de aumentar a produção de proteína do leite só terá benefício quando complementar positivamente a proteína microbiana e a composição da proteína dos demais alimentos (CARVALHO, 2000).

A adição de gordura na dieta geralmente leva a uma redução no teor de proteína do leite em torno de 0,1 a 0,3 unidades percentuais ou cerca de 0,07% para cada 450g de gordura adicionada.

Segundo CARVALHO (2000), uma explicação para tal fato é que os microorganismos do rúmen não estão aptos para a utilização de gordura como fonte de energia para seu desenvolvimento, afetando a síntese de proteína microbiana e conseqüentemente o fornecimento de aminoácidos para a composição da proteína do leite.

Este mesmo autor cita ainda que outras hipóteses incluem algum tipo de atuação das gorduras no transporte de aminoácidos para a glândula mamária, uma redução na liberação de somatotropina, com queda no consumo, reduzindo o alimento das bactérias ruminais.

Outra influência na produção de proteínas no leite relacionadas com a atividade microbiana ruminal é a utilização de aditivos. A niacina melhora o balance energético aumentando a produção de propionato e os ionóforos (monensina, lasalocida) maximizam a produção de ácidos graxos voláteis (AGV) no rúmen,

promovendo a diminuição das perdas energéticas com a produção de metano e gás carbônico. Deve-se reconhecer, porém, que os aumentos com a utilização deste aditivos são muito pequenos.

Segundo WITTWER (2000a), o conteúdo de proteínas do leite é dependente diretamente do aporte de energia da dieta, considerando como normal de proteína no leite um valor acima de 30g/L, enquanto que valores inferiores indicam uma deficiência de energia. Um aporte deficiente de energia na dieta leva a uma diminuição no conteúdo de proteínas no leite e, por outra parte, um excesso absoluto ou relativo em relação a energia, de proteínas degradáveis e solúveis no rúmen leva a uma excessiva formação e absorção de amônia ruminal com incremento na concentração de uréia no leite.

A taxa de passagem e degradação da forragem oferecida aos animais, influencia a composição do leite produzido. A estes fatores pode-se acrescentar o consumo de matéria seca (CMS) e a quantidade de fibra em detergente neutro (FDN) que constituem as dietas (FREDEEN, 1996).

Este mesmo autor sugere que, aumentando a digestibilidade da forragem obtêm-se efeitos positivos na produção de leite e no percentual de proteína no leite, com efeitos inconsistentes no percentual de gordura no leite.

Testes bioquímicos do leite podem ser utilizados no estudo do *status* metabólico do animal para a detecção de deficiências energéticas como as cetoses clínicas e sub-clínicas na fase inicial da lactação. Além disto, alterações na composição do leite (lactose, minerais, proteínas, uréia) podem ser atribuídas à reposta animal à incidência de problemas como mastites (HAMANN e KRÖMKER, 1997)

Por ter um baixo peso molecular, a uréia sanguínea atravessa o epitélio alveolar da glândula mamária difundindo-se no leite (WITTWER, 2000a).

A quantidade de uréia no leite (MUN) reflete de forma direta o nível de uréia no sangue e o equilíbrio proteína:energia da dieta (MOORE e VARGA, 1996; FERGUSON, 1996; WITTWER et al., 1996; INTA, 1996; SCHEPERS et al., 1998; WESTWOOD et al., 1998; WITTWER, 2000a).

O MUN e o percentual de proteína do leite servem como indicadores do estado nutricional das vacas leiteiras, sendo a sua aplicação amplamente

recomendada por vários autores como método de monitoramento do *status* protéico-energético e como meio de prevenção dos efeitos negativos de uma nutrição deficiente (EICHER et al., 1999).

WITTWER et al. (1999), citam que os valores elevados de uréia no leite e sangue estão relacionados indiretamente com a baixa performance reprodutiva dos animais avaliados, e sugere que os valores de uréia no leite estejam entre os valores de referência de 2,5-7,3 mmol/L.

Níveis elevados de uréia no leite também estão relacionados com a diminuição da acidez titulável do leite (RODRIGUES, 2000).

Ocorrem variações diurnas de uréia no leite, sendo que as amostras coletadas no período da tarde tem valores maiores do que aquelas da ordenha da manhã (MIETTINEN e JUVONEN, 1990).

A alta concentração de uréia no leite é sinônimo de rações desequilibradas e má utilização da uréia pelos microorganismos do rúmen. Além disso, quanto maior a quantidade de uréia no leite, menor é a concentração de proteínas verdadeiras, principalmente a caseína (INTA, 1996).

3 MATERIAIS E MÉTODOS.

3.1 Local e grupos de animais.

O presente trabalho foi desenvolvido em uma granja leiteira localizada no município de Santo Augusto, noroeste do estado do Rio Grande do Sul. Explorava-se nesta propriedade as culturas de soja, trigo e bovinocultura de leite.

Este trabalho é parte complementar da tese de doutorado em Nutrição Animal do professor Nelcy Madruga de Carvalho de título “Utilização do Grão Tostado de Soja (*glycinemax. (L) Merrill*) na Alimentação de Vacas em Lactação”, junto ao Programa de Pós-Graduação de Zootecnia da UFRGS e teve apoio financeiro da Fundação de Apoio a Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

A propriedade possuía um total de 60 vacas da raça Holandesa em lactação. Neste trabalho foram utilizadas 12 vacas, selecionadas pela fase de lactação em boas condições sanitárias, distribuídas em 3 grupos de 4 vacas cada um. Os animais utilizados apresentaram uma média de produção de leite, durante o experimento, de 26,31 kg/vaca/dia. Um animal morreu no início do experimento e seus dados foram retirados do trabalho. Os animais utilizados no experimento estão relacionados na Tabela 1, juntamente com a idade, número de lactações, dias em lactação no primeiro dia de coleta de material e peso corporal. Todas as vacas encontravam-se após o pico de lactação (média de 147,4 dias) no primeiro dia de coleta (13/12/00). Esta fase de lactação apresenta menores variações individuais de produção, o que facilita a interpretação dos resultados.

TABELA 1. Dados sobre os animais utilizados no experimento.

Número do animal	Idade (anos)	Número de lactações	Dias em lactação no início das coletas	Peso corporal (kg)
152	8,8	5	142	605
259	3,5	2	135	542
260	3,5	2	139	525
248	4,2	3	117	658
230	5,0	4	161	694
237	4,7	2	165	623
262	6,0	2	132	605
78	9,0	3	139	670
253	3,9	2	113	580
261	3,3	2	167	585
238	4,6	3	212	610
Média	5,1	2,7	147,4	608,8

3.2 Tratamentos.

Os tratamentos aplicados no presente trabalho compreendiam a administração de dietas com fontes protéicas diferentes. Todas as dietas foram isonitrogenadas, tendo as seguintes composições: concentrado protéico (tratamento 1), farelo de soja (tratamento 2), grão de soja cru (tratamento 3) e grão de soja tratado termicamente (tratamento 4).

A soja recebeu tratamento térmico em torno de 146°C, com *steeping* de 30 minutos em recipiente térmico, como sugerido por HSU e SATTER (1995).

O tratamento utilizado neste experimento envolvia a utilização de um forno experimental aonde os grãos de soja eram tratados termicamente. Dentro deste forno, a temperatura do ar atingiu cerca de 380°C, elevando desta maneira a temperatura nos grãos para 146°C aproximadamente.

Os animais foram mantidos em sistema *free stall* e alimentados três vezes ao dia, após a primeira ordenha, no meio do dia e após a segunda ordenha. As dietas foram oferecidas totalmente misturadas e cada animal tinha seu canzil para evitar possíveis competições pelo alimento oferecido. Os animais eram soltos separadamente dos demais da propriedade em local sem acesso a alimentos com água a vontade.

Cada grupo de três animais recebeu um dos tratamentos durante 14 dias. Logo após este período, os animais passaram ao tratamento seguinte e assim sucessivamente até que todos os grupos passassem por todos os tratamentos (delineamento experimental em quadrado latino).

As dietas fornecidas aos animais foram elaboradas utilizando o programa de software *Spartan Dairy Ration Evaluator/Balancer*, CP-012, version 2.01.

Na alimentação de vacas leiteiras existe uma regra fundamental que preconiza que a quantidade de concentrado não pode exceder a metade do total de matéria seca consumida pelo animal, ou seja, a relação volumoso:concentrado deve ser de, no mínimo, 50:50 (MUHLBACH, 2000).

Então, respeitando esta regra, nas dietas oferecidas para os animais durante a realização deste trabalho, a quantidade de volumoso (pré secado de azevém) era de 68,2% no tratamento 1 (concentrado protéico), 62,5% no tratamento 2 (farelo de soja), 60,0% no tratamento 3 (grão de soja cru) e 58,7% no tratamento 4 (grão de soja tostado).

Como pode ser observado, a quantidade de volumoso estava bem acima do mínimo exigido para que se mantenha o bom funcionamento ruminal.

As Tabelas 2 a 5 mostram a composição das dietas dos diferentes tratamentos.

TABELA 2. Composição da dieta do tratamento 1 (concentrado protéico)*.

Alimentos	Como oferecido (kg)	Matéria seca (kg)	Matéria seca (%)	Energia líquida (Mcal/kg)	Proteína bruta na M.S. (%)
Pré secado azevém	46,08	14,35	31,1	1,38	10,7
Farelo de soja	1,96	1,71	87,5	2,04	50,1
Trigo moído	0,93	0,80	86,8	1,91	14,8
Milho padrão II	0,35	0,31	87,1	1,98	8,8
Farinha de Peixe	0,57	0,51	90,3	1,67	62,5
Protenose	0,60	0,54	90,8	2,06	63,2
Refinazil	2,36	2,15	91,2	1,87	21,0
Açúcar mascavo	0,19	0,18	99,0	-	-
Sal comum	0,0510	0,0505	99,0		
Fosfato bicálcico	0,162	0,158	97,0		
Farinha de ostra	0,0878	0,0869	99,0		
Bicarbonato de sódio	0,1103	0,1092	99,0		
Óxido de magnésio	0,0368	0,0361	98,0		
Bioplex Zn	0,00112	0,00111	99,0		
Sinox	0,00113	0,00112	99,0		
DBR Probiótico	0,01	0,01	-		
Nuvmicro bovinos	0,02725	0,02697	99,0		
Nuvmix AD3E	0,01426	0,01412	99,0		
TOTAL	53,54	21,05	39,3	1,51	17,4

* Cálculo para uma vaca em lactação pesando 600kg, visando uma produção de 32 kg de leite/vaca/dia.

TABELA 3. Composição da dieta do tratamento 2 (farelo de soja)*.

Alimentos	Como oferecido (kg)	Matéria seca (kg)	Matéria seca (%)	Energia líquida (Mcal/kg)	Proteína bruta na M.S. (%)
Pré secado azevém	42,23	13,15	31,1	1,38	10,7
Farelo de soja	4,49	3,93	87,5	2,04	50,1
Milho padrão II	3,73	3,25	87,1	1,98	8,8
Açúcar mascavo	0,20	0,20	99,0	-	-
Sal comum	0,0536	0,0530	99,0		
Fosfato bicálcico	0,018	0,017	97,0		
Farinha de ostra	0,0938	0,0929	99,0		
Bicarbonato de sódio	0,1206	0,1194	99,0		
Óxido de magnésio	0,0406	0,0398	98,0		
Bioplex Zn	0,00134	0,00132	99,0		
Sinox	0,00134	0,00132	99,0		
DBR Probiótico	0,01	0,01	-		
Nuvmicro bovinos	0,00134	0,00132	99,0		
Nuvmix AD3E	0,00134	0,00132	99,0		
TOTAL	51,17	21,05	41,1	1,57	17,4

* Cálculo para uma vaca em lactação pesando 600kg, visando uma produção de 32 kg de leite/vaca/dia.

TABELA 4. Composição da dieta do tratamento 3 (grão de soja cru)*.

Alimentos	Como oferecido (kg)	Matéria seca (kg)	Matéria seca (%)	Energia líquida (Mcal/kg)	Proteína bruta na M.S. (%)
Pré secado azevém	40,53	12,62	31,1	1,38	10,7
Farelo de soja	1,56	1,37	87,5	2,04	50,1
Trigo moído	2,37	2,06	86,8	1,91	14,8
Milho padrão II	0,99	0,87	87,1	1,98	8,8
Grão de soja cru	3,77	3,33	88,2	2,13	37,2
Açúcar mascavo	0,23	0,22	99,0	-	-
Sal comum	0,0605	0,0599	99,0		
Fosfato bicálcico	0,201	0,195	97,0		
Farinha de ostra	0,1059	0,1048	99,0		
Bicarbonato de sódio	0,1361	0,1348	99,0		
Óxido de magnésio	0,0458	0,0449	98,0		
Bioplex Zn	0,00151	0,00150	99,0		
Sinox	0,00151	0,00150	99,0		
DBR Probiótico	0,01	0,01	-		
Nuvimicro bovinos	0,01513	0,01498	99,0		
Nuvmix AD3E	0,01513	0,01498	99,0		
TOTAL	50,04	21,05	42,1	1,59	17,4

* Cálculo para uma vaca em lactação pesando 600kg, visando uma produção de 32 kg de leite/vaca/dia.

TABELA 5. Composição da dieta do tratamento 4 (grão de soja tostado)*.

Alimentos	Como oferecido (kg)	Matéria seca (kg)	Matéria seca (%)	Energia líquida (Mcal/kg)	Proteína bruta na M.S. (%)
Pré secado azevém	39,69	12,36	31,1	1,38	10,7
Farelo de soja	1,25	1,09	87,5	2,04	50,1
Trigo moído	2,76	2,40	86,8	1,91	14,8
Milho padrão II	0,87	0,76	87,1	1,98	8,8
Grão de soja tostado	3,77	3,53	93,6	2,13	39,0
Açúcar mascavo	0,25	0,25	99,0	-	-
Sal comum	0,0679	0,0672	99,0		
Fosfato bicálcico	0,225	0,218	97,0		
Farinha de ostra	0,1188	0,1176	99,0		
Bicarbonato de sódio	0,1527	0,1512	99,0		
Óxido de magnésio	0,0514	0,0504	98,0		
Bioplex Zn	0,00170	0,00168	99,0		
Sinox	0,00170	0,00168	99,0		
DBR Probiótico	0,02	0,02	-		
Nuvimicro bovinos	0,01697	0,01680	99,0		
Nuvimix AD3E	0,01697	0,01680	99,0		
TOTAL	49,26	21,05	42,7	1,59	17,4

* Cálculo para uma vaca em lactação pesando 600kg, visando uma produção de 32 kg de leite/vaca/dia.

3.3 Períodos de coletas.

Foram realizados quatro períodos de aplicação dos tratamentos, com duração de 14 dias cada um, sendo as amostras tomadas sempre no último dia de cada período (14º dia), como realizado por KERRY et al.(1993) e HSU e SATTER (1995). As amostragens foram realizadas no período entre o dia 30 de novembro de 2000 e 24 de janeiro de 2001, época correspondente à estação do verão no estado do Rio Grande do Sul. O período de adaptação prévio ao experimento foi de três semanas (9 a 21 de novembro do 2000).

3.4 Amostragens.

Foram feitas coletas de 10 ml de sangue de cada animal, utilizando a veia coccígea (GONZÁLEZ e ROCHA, 1998), durante a segunda alimentação do dia (entre as 13:30h e as 15:00h). As amostras foram coletadas em tubos *vacutainer* com heparina sódica como anticoagulante. Logo após, foram centrifugadas (1.500 g durante 15 minutos) e o plasma (cerca de 3 ml) armazenado em tubos *ependorf* e conservados sob refrigeração (caixa de isopor com gelo) durante seu transporte ao laboratório, aonde foram armazenadas a -20°C, até sua análise. Foram realizadas quatro coletas de amostras nos dias 13/12/00, 27/12/00, 10/01/01, 24/01/01. Estas datas são correspondentes ao 14º dia de cada período.

As amostras de leite foram coletadas igualmente no último dia de cada período de aplicação dos tratamentos, para a determinação de uréia e proteína total. Foram coletadas duas amostras, uma a cada ordenha do dia, em tubos contendo azida de sódio como método de preservação e congeladas para seu envio ao laboratório. No laboratório, as amostras de leite foram processadas visando a conservação da fração aquosa, armazenada em tubos *ependorf* a -20°C para posterior análise.

Amostras simultâneas de leite dos dias de coletas também foram coletadas em tubos, acondicionadas e enviadas para análise de composição pelo Laboratório de Serviço de Análise de Rebanhos Leiteiros (SARLE) do Centro de Pesquisa em Alimentação (CEPA) da Universidade de Passo Fundo (RS). Destas análises foram obtidos os valores de proteínas do leite.

As análises da composição do leite foram executadas mediante analisador eletrônico na faixa do infravermelho, que permite a análise simultânea de quatro componentes do leite: gordura, proteína, lactose e sólidos totais (*Bentley 2000*). O princípio fundamental de analisadores no infravermelho é que as moléculas de cada componente individual do leite (gordura, proteína, lactose) vibra em diferentes comprimentos de onda quando recebem a radiação infravermelha. Medindo-se o nível de absorção nestes comprimentos de onda específicos, pode-se determinar a concentração dos componentes do leite.

3.5 Determinação dos metabólitos sangüíneos.

Os seguintes metabólitos do plasma sangüíneo foram determinados por métodos espectrofotométricos: glicose (método de glicose oxidase)¹, beta-hidroxibutirato (método ultravioleta cinético enzimático)², colesterol (método da colesterol esterase)¹, albumina (método do verde de bromocresol)¹, proteína total (método do biureto)¹, uréia (método da urease)¹, aspartato aminotransferase (método ultravioleta cinético enzimático)¹, cálcio (método do púrpura de ftaleína)¹, fósforo (método do molibdato de amônio)¹ e magnésio (método do magon sulfonado)¹. O aparelho utilizado para a determinação dos metabólitos foi um espectrofotômetro Metrolab 1600 plus. A determinação da uréia no leite foi realizada utilizando-se o método de Berthelot modificado¹.

3.6 Valores de referência dos metabólitos.

Os valores de referência dos metabólitos sangüíneos e da uréia no leite considerados neste trabalho são os preconizados pelo Laboratório de Bioquímica Clínica Animal da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) (GONZÁLEZ et al., 1999) e pelo Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Austral do Chile (UACH) (WITTWER, 2000b).

Tais valores de referência, nas duas fontes consideradas, provêm de estudos realizados em vacas leiteiras no Hemisfério Sul do continente americano. Os valores da UACH foram obtidos em estudos realizados com um grande número de animais ao longo de 20 anos, sob as condições ambientais no sul do Chile, similares às condições ambientais em que se encontravam os animais do presente trabalho. Os valores do laboratório da UFRGS correspondem a 168 animais. Portanto, para fins comparativos, foi estabelecida a utilização de ambos valores de referência (Tabela 6).

¹ Labtest Diagnóstica S.A. (Lagoa Santa – MG, Brasil); ² Randox (Antrim, Reino Unido).

TABELA 6. Valores de referência dos metabólitos estudados.

Metabólito (unidade)	Intervalos	
	UACH*	UFRGS**
Glicose (mmol/l)	2,50 – 4,10	2,06 – 3,64
Beta-hidroxibutirato (mmol/l)	0,02 – 0,46	0,19 – 1,67
Colesterol (mmol/l)	3,00 – 5,00	1,89 – 5,02
Albumina (g/l)	29 – 41	25,1 – 35,5
Globulinas (g/l)	28 – 52	31,5 – 62,7
Proteína Total (g/l)	66 – 90	61,4 – 93,2
Uréia no plasma (mmol/l)	2,60 – 7,00	5,37 – 9,08
Uréia no leite (mmol/l)	2,60 – 7,00	-
Aspartato aminotransferase (U/l)	< 125	< 98,1
Cálcio (mmol/l)	2,00 – 2,60	1,72 – 2,97
Fósforo (mmol/l)	1,10 – 2,30	1,71 – 3,32
Magnésio (mmol/l)	0,65 – 1,14	0,61 – 1,35

* Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Austral do Chile (WITTEWER, 2000b).

** Laboratório de Bioquímica Clínica Animal da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (GONZÁLEZ et al., 1999).

3.7 Análise dos dados.

Os dados foram organizados na forma de um delineamento em quadrado latino (ensaio rotacional), com 3 quadrados latinos com 4 períodos, 4 tratamentos, e 4 animais dentro de cada quadrado latino.

A análise estatística foi realizada com a Análise de Modelos Mistos do programa estatístico SAS versão 6.12 (Statistical Analysis System Institute, 1996), tendo sido considerados como efeitos aleatórios o animal dentro do quadrado latino e o quadrado latino e, como efeitos fixos, os tratamentos e os períodos. Para a comparação entre as médias foi utilizado o procedimento LSMEANS. Foi adotado o nível de significância de 5%.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.

4.1 Caracterização da condição metabólica.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar a condição metabólica de vacas leiteiras no terço médio da lactação alimentadas com diferentes fontes protéicas em 4 tratamentos diferentes.

Para efeitos de discussão, este objetivo foi dividido nos seguintes itens: metabolismo nitrogenado, metabolismo energético, indicadores da função hepática e metabolismo mineral.

Posteriormente é discutido o conteúdo de uréia e de proteína no leite, procurando-se estabelecer uma relação com o perfil metabólico.

4.1.1 Metabolismo nitrogenado.

Para determinar o *status* protéico de um animal ou rebanho são dosadas as concentrações sanguíneas de albumina, globulinas e uréia (PAYNE e PAYNE, 1987).

Como em muitos outros componentes do perfil, a interpretação é complexa uma vez que todos desempenham um papel vital em um diagnóstico diferencial. A

uréia, considerando alguns fatores, representa o ingresso imediato de proteína bruta no organismo, enquanto que a albumina, a mais longo prazo, representa o *status* protéico. Para que ocorra a detecção de mudanças significativas na concentração plasmática de albumina é necessário pelo menos um período de um mês, devido a baixa velocidade de síntese e de degradação desta proteína no ruminante.

As concentrações de albumina plasmática podem sofrer alterações por influencia do funcionamento hepático, aporte protéico e energético na ração, idade e perdas durante doenças, como, por exemplo, parasitismos.

Animais mais velhos tendem a apresentar níveis menores de albumina do que animais mais novos.

Os valores de albumina encontrados nos animais estudados (Tabela 7) estiveram dentro dos valores de referência do laboratório da UACH, mas acima dos valores considerandos normais pelo laboratório da UFRGS.

O tratamento que apresentou maior média nos valores de albumina foi o do concentrado protéico (38,9 g/l), seguido pelo tratamento com grão de soja tostado (38,5 g/l). Estes resultados evidenciam a adaptação metabólica dos animais ao momento da lactação considerado. Valores menores de albumina são observados no início da lactação até o pico de produção, época considerada nos animais estudados para a obtenção dos valores de referência da UFRGS (GONZÁLEZ, 2000). Não foram observadas diferenças significativas dos valores de albumina entre os tratamentos ($P < 0,05$).

As globulinas podem servir como orientação do *status* imunológico e também ajudar nas interpretações anormais de albumina (PAYNE e PAYNE, 1987).

GONZÁLEZ E ROCHA (1998) atribuíram a processos inflamatórios como mastites ou endometrites, o aumento nos níveis de globulinas de vacas lactantes (23,3% a mais do que vacas secas).

No presente trabalho foram encontrados valores elevados de globulinas, quando relacionados aos valores de referência do laboratório da UACH, do Chile (Tabela 7). Tais valores podem ser atribuídos a ocorrência de 4 casos de mastite (3 sub-clínicas e 1 clínica) durante a realização do experimento.

Comparando-se os valores de globulinas obtidos no experimento com os valores de referência do laboratório da UFRGS, os mesmos apresentam-se dentro dos limites considerados normais.

Outra explicação para os valores médios elevados de globulinas é que a média de idade dos animais utilizados no experimento é de 5,1 anos e as globulinas aumentam com a idade, fator atribuído a maior “experiência” imunológica, ao passo que a albumina declina (PAYNE & PAYNE, 1987).

Em relação aos tratamentos, a maior média numérica de globulinas ocorreu no tratamento com farelo de soja como complemento protéico (56,1 g/l), e o tratamento com grão de soja cru obteve a menor média (52,7 g/l).

Não foram encontradas diferenças significativas dos valores de globulinas entre os tratamentos ($P < 0,05$).

A concentração de uréia sanguínea tem sido empregada nos perfis metabólicos como um indicador da atividade metabólica protéica dos animais. Isto se baseia no fato de que a uréia é sintetizada no fígado em quantidades proporcionais à concentração de amônia produzida no rúmen e sua concentração sanguínea está diretamente relacionada com os níveis protéicos da ração e da relação energia/proteína da dieta (WITTEWER et al., 1993; GARCIA, 1997).

O equilíbrio energia/proteína na dieta de ruminantes é fundamental para o bom aproveitamento da uréia. Alterações na dieta, sazonais ou mesmo diárias, influenciam nos níveis de uréia no sangue e o seu bom aproveitamento pelo animal.

TABELA 7. Valores médios e desvio padrão (DP) da concentração plasmática de albumina, globulina e uréia dos 11 animais nos tratamentos 1, 2, 3 e 4.

Tratamento	Albumina (g/l)		Globulinas (g/l)		Uréia (mmol/l)	
	Média	D.P.	Média	D.P.	Média	D.P.
1 (concentrado protéico)	38,9	3,01	55,27	13,28	7,28	0,93
2 (farelo de soja)	38,0	3,57	56,09	14,42	7,36	1,11
3 (soja crua)	37,90	4,03	52,72	10,77	7,49	0,48
4 (soja tostada)	38,54	4,25	55,36	10,25	6,83	0,89

($P > 0,05$, sem diferença significativa)

Comparando-se os valores de uréia obtidos (Figura 1) com os valores de referência adotados pelo laboratório da UACH, todos os tratamentos teriam suas médias acima dos valores normais, com exceção do tratamento 4 (grão de soja tostado). Porém, quando se realiza esta comparação com os valores de referência do laboratório da UFRGS, todos os valores médios estão dentro dos intervalo de normalidade.

Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos ($P < 0,05$), sugerindo que as dietas utilizadas nos diferentes tratamentos eram equilibradas na relação energia:proteína.

O menor valor numérico do teor de uréia plasmática no tratamento que utiliza a soja tostada (tratamento 4), pode ser atribuído a uma possível diminuição da degradabilidade das proteínas da soja em nível ruminal proporcionado pelo tratamento térmico. Uma outra explicação seria um melhor equilíbrio das proporções de energia e proteína na dieta levando a menor liberação de amônia no rúmen e conseqüente diminuição da produção de uréia no fígado.

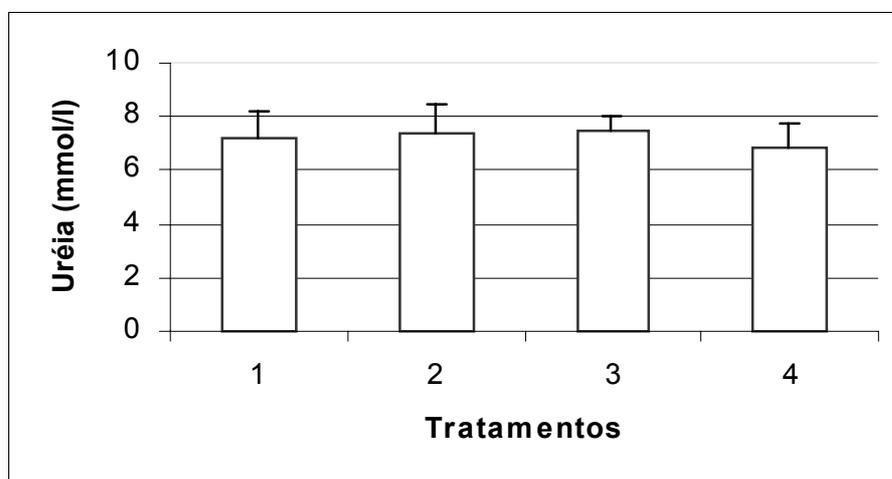


FIGURA 1. Variações de uréia plasmática nos quatro tratamentos (1: concentrado protéico; 2: farelo de soja; 3: soja crua; 4: soja tostada).

4.1.2 Metabolismo energético.

O metabolismo energético pode ser estudado no plasma sanguíneo usando como indicadores a glicose, o β -hidroxibutirato (BHB) e o colesterol (PAYNE e PAYNE, 1987).

A glicose tem importância fundamental no metabolismo energético da vaca leiteira devido à necessidade deste metabólito na síntese de lactose, sendo maior a demanda no período inicial do pós-parto (PAYNE e PAYNE, 1987).

No presente trabalho foram observados valores médios normais de glicose nos 4 tratamentos, quando comparados com os valores de referência utilizados pelo laboratório da UACH. Quando comparados com os valores do laboratório da UFRGS, os valores médios estão levemente acima do intervalo de referência (Tabela 8). Estes últimos valores foram levantados em animais nos primeiros meses de lactação (GONZÁLEZ, 2000), época caracterizada por um balanço energético negativo na maioria das vacas de alta produção, sendo o momento de menor glicemia e maior incidência de cetoses clínicas e subclínicas.

Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos deste trabalho em relação aos níveis de glicose no plasma.

Os corpos cetônicos, β -hidroxibutirato (β HB) e acetoacetato, são produtos fisiológicos do metabolismo de glicídeos e lipídeos de ruminantes. Seus precursores são as gorduras, os ácidos graxos voláteis produzidos no rúmen e os ácidos graxos da dieta, bem como os depósitos de gordura do animal. O ácido butírico produzido no rúmen é transformado no epitélio dos pré-estômagos, via acetoacetato, em β HB, sendo este o principal corpo cetônico do sangue do ruminante normal (WITTWER, 2000).

Segundo GONZÁLEZ (1997), a maioria das vacas de alta produção têm algum grau de cetose (subclínica) no início da lactação em função do balanço energético negativo nesse período crítico (40 dias pós-parto).

No presente trabalho, os valores médios de β HB apresentaram-se dentro dos dois intervalos de referência utilizados, indicando que os animais utilizados no experimento, não apresentavam deficiência energética (Tabela 8).

Não foram observadas diferenças significativas dos valores de beta-hidroxibutirato entre os tratamentos ($P < 0,05$).

Foram encontradas médias de colesterol maiores nos tratamentos 3 e 4 (grão de soja cru e tostado respectivamente) seguido do tratamento 1 (concentrado protéico), apesar deste apresentar um valor médio apenas levemente acima dos valores de referência. Para o tratamento 2 (farelo de soja) os valores médios permaneceram dentro do intervalo de referência preconizado tanto pelo laboratório da UACH como da UFRGS (Tabela 8 e Figura 2).

Uma possível explicação para os valores elevados dos tratamentos 3 e 4, seria a presença de óleos nos grãos. As sementes oleaginosas contém principalmente triglicerídeos, que são por sua vez, ricos em ácidos graxos insaturados (NRC, 2001).

Após a fermentação ruminal, os ácidos graxos que atingem o duodeno são absorvidos e vão ao fígado ou são enviados ao tecido adiposo para a lipogênese. No fígado, os ácidos graxos são β -oxidados e produzem acetil-CoA. Quando não ocorre carência energética, que é o caso dos animais estudados, a acetil-CoA é utilizado para a síntese de colesterol.

Observou-se, de uma forma geral, que as diferenças permaneceram entre os tratamentos que utilizaram farelos ou farinhas e os tratamentos que utilizaram grãos, confirmando que os grãos podem fornecer mais fontes para a produção de colesterol do que os farelos.

TABELA 8. Valores médios e desvio padrão (D.P.) da concentração plasmática de glicose, beta-hidroxibutirato, colesterol e AST dos 11 animais estudados nos tratamentos 1, 2, 3 e 4.

Tratamento	Glicose(mmol/l)		BHB(mmol/l)		Colesterol(mmol/l)		AST(U/l)	
	Média	D. P.	Média	D. P.	Média	D. P.	Média	D. P.
1 (concentrado protéico)	3,93	1,04	0,36	0,11	5,53 ^b	1,60	67,11	11,39
2 (farelo de soja)	3,91	1,12	0,36	0,09	5,0 ^c	0,67	70,31	13,39
3 (soja crua)	3,67	0,67	0,39	0,10	6,54 ^a	1,13	73,79	10,98
4 (soja tostada)	3,66	0,32	0,35	0,06	6,31 ^b	0,88	75,44	15,73

^{a, b, c} – Valores com letras diferentes, têm diferença significativa entre os tratamentos ($P < 0,05$).

Valores elevados de colesterol em animais de alta produção sugerem que este metabólito possa ser um indicador da capacidade da vaca em produzir leite, como reflexo da mobilização lipídica das reservas corporais para lactogênese (GONZÁLEZ e ROCHA, 1998).

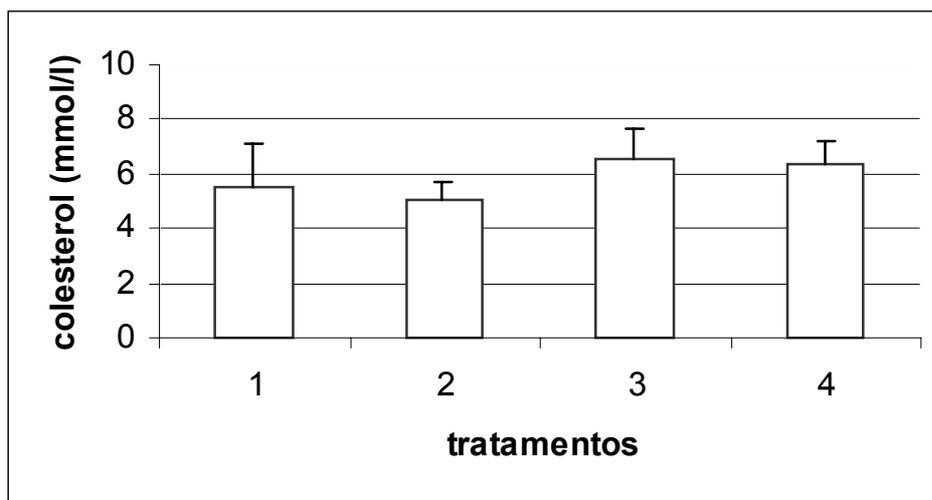


FIGURA 2. Variações de colesterol nos quatro tratamentos (1: concentrado protéico; 2: farelo de soja; 3: soja crua; 4: soja tostada)

4.1.3 Indicadores da função hepática.

Entre os indicadores usados no perfil metabólico para avaliar a função hepática em bovinos estão a enzima aspartato-aminotransferase (AST), a albumina, a glicose e o colesterol (PAYNE e PAYNE, 1987).

A enzima AST pode indicar o mau funcionamento do fígado aumentando o seu nível na corrente circulatória nos casos de desordem hepática como, por exemplo, em episódios de hipoglicemias, em que a mobilização lipídica danifica o fígado ou em qualquer outro caso de anormalidades infecciosas ou tóxicas que afetem as funções hepáticas. Em vacas em lactação é comum observar injúrias hepáticas com aumento da AST, como consequência da maciça mobilização de gordura, especialmente em vacas de alta produção.

Os ruminantes dependem de um adequado funcionamento hepático para a síntese de glicose. A manutenção da glicemia normal indica adequada adaptação metabólica ao desafio da lactação.

Neste trabalho, não foram detectados valores de AST acima dos intervalos de referência preconizados pelos laboratórios da UACH e da UFRGS. Isto indica um bom funcionamento hepático (Tabela 8). Não foram observadas diferenças significativas dos valores de AST entre os tratamentos ($p < 0.05$).

A albumina é considerada indicadora da função hepática durante o pós-parto, uma vez que fisiologicamente existe uma queda na época do parto e a recuperação dos níveis depende da atividade do fígado. Também o colesterol produzido neste órgão, pode ser indicador da funcionalidade hepática.

Os valores encontrados de albumina e colesterol neste trabalho (Tabelas 7 e 8, respectivamente) são indicativos de que o fígado não teve sua função afetada durante a aplicação dos tratamentos deste experimento.

4.1.4 Metabolismo mineral.

Com relação ao metabolismo mineral, foram estudados, no presente trabalho, os macrominerais cálcio (Ca), fósforo (P) e magnésio (Mg).

Tratando-se do cálcio, existem consideráveis informações sobre seu metabolismo, mas sua interpretação é um dos aspectos mais confusos do perfil metabólico. Suas concentrações plasmáticas normalmente estão sob um controle hormonal rigoroso, mas mesmo assim, podem sofrer influência da dieta (CORBELLINI, 1998).

Os níveis de albumina também interferem nos níveis plasmáticos de cálcio, uma vez que esta proteína transporta uma alta proporção de Ca sanguíneo. Uma hipoalbuminemia leva a diminuição do cálcio total, forma como este é medido no plasma (GONZÁLEZ, 2000).

A hipocalcemia é freqüente nas vacas leiteiras de alta produção, podendo causar febre do leite e paresia do parto. Neste trabalho, os níveis de cálcio estiveram dentro dos valores de referência adotados (Tabela 9). Foi constatado que as dietas

com farelo de soja e grão de soja cru apresentaram as menores médias dos níveis de cálcio plasmático, sem, contudo, observar diferenças significativas entre os tratamentos ($P < 0,05$).

O interesse principal do perfil metabólico está no P inorgânico no plasma. A manutenção dos níveis de P no sangue é parcialmente controlada pelos mesmos fatores que promovem a assimilação do Ca (GONZÁLEZ, 2000), sendo que a concentração de P no animal pode variar devido a alterações fisiológicas como lactação, prenhez, deficiências nutricionais em proteínas e minerais.

No presente trabalho, foram observados valores médios de P acima dos valores de referência preconizados pelo laboratório da UACH, mas que se mantiveram dentro do intervalo de normalidade, segundo os valores de referência do laboratório da UFRGS (Tabela 9).

Não foram encontradas diferenças significativas dos valores de fósforo entre os tratamentos ($P < 0,05$).

Não existe um controle homeostático para o Mg como existe para o Ca. Os níveis de Mg no plasma estão diretamente relacionados com os níveis ingeridos deste mineral na dieta.

Neste experimento os valores médios de Mg permaneceram dentro dos valores de referência preconizados pelos laboratórios da UACH e da UFRGS (Tabela 9). Não foram observadas diferenças significativas dos valores de Mg entre os tratamentos ($P < 0,05$).

TABELA 9. Valores médios e desvio padrão (D.P.) da concentração plasmática de cálcio, fósforo e magnésio dos 11 animais estudados nos tratamentos 1, 2, 3 e 4.

Tratamento	Cálcio(mmol/l)		Fósforo(mmol/l)		Magnésio(mmol/l)	
	Média	D. P.	Média	D. P.	Média	D. P.
1 (concentrado protéico)	2,22	0,63	2,64	0,82	1,03	0,14
2 (farelo de soja)	1,94	0,25	2,45	0,61	1,07	0,15
3 (soja crua)	2,06	0,22	2,70	0,56	1,13	0,15
4 (soja tostada)	2,13	0,11	2,80	0,49	1,04	0,12

($P > 0,05$, sem diferença significativa)

4.2 Relação da composição sangüínea com a proteína e uréia no leite.

Vários fatores afetam o conteúdo de proteínas do leite, entre os quais podem ser citados: a qualidade da proteína *by-pass*, o nível de produção de proteína microbiana, ou seja, o bom equilíbrio entre energia e proteína da dieta que permita a multiplicação microbiana, a genética do animal e os níveis de gordura no leite.

Entre as diversas fontes de proteína *by-pass*, a farinha de peixe apresenta-se como uma boa fonte de lisina e metionina, reconhecidos como sendo os dois primeiros aminoácidos limitantes ou co-limitantes da produção de proteína no leite.

A soja, além de ser uma boa fonte protéica para ruminantes, é conhecida como uma boa fonte de lisina, porém é deficiente em metionina. Portanto, a utilização desta fonte protéica deve ser consorciada com outra fonte de proteínas que equilibre o perfil de aminoácidos desta dieta.

O tratamento térmico do grão de soja reduz a sua degradabilidade ruminal, permitindo que o montante de aminoácidos desta fonte protéica seja absorvido em nível intestinal para ser aproveitado nas diferentes rotas metabólicas do organismo, principalmente a produção de leite.

Porém, é sabido que o tratamento térmico exagerado reduz a viabilidade dos aminoácidos no intestino delgado, limitando a resposta animal ao aumento da proteína que escapa da degradação ruminal (GRIFFIN et al., 1993).

Neste trabalho foram encontradas médias do percentual de proteína no leite bastante similares em todos os tratamentos, sendo que estas permaneceram dentro dos limites recomendados pelo INTA (1996), que estão entre 2,6-4,0% de proteínas no leite (Tabela 10).

Os valores médios de proteína do leite encontrados também demonstram o bom equilíbrio da relação energia:proteína das dietas de todos os tratamentos aplicados neste trabalho.

A Tabela 10 mostra as médias encontradas para o percentual de proteína do leite nas ordenhas da manhã, da tarde e total nos quatro tratamentos estudados. Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos para o percentual de proteína do leite ($P > 0,05$).

TABELA 10. Médias e desvio padrão (D.P.) da proteína do leite (%) das ordenhas da manhã e da tarde e a média das duas ordenhas, dos animais estudados nos tratamentos 1, 2, 3 e 4.

Tratamento	Manhã		Tarde		Média total	
	Média	D. P.	Média	D. P.	Média	D. P.
1 (conc. protéico)	3,14	0,28	3,12	0,25	3,13	0,25
2 (farelo de soja)	3,19	0,31	3,18	0,24	3,19	0,26
3 (soja crua)	3,10	0,24	3,11	0,20	3,10	0,21
4 (soja tostada)	3,02	0,22	3,06	0,26	3,04	0,22

($P > 0,05$, sem diferença significativa)

O tratamento 2 (farelo de soja) foi o de maior valor numérico no teor de proteína do leite (Tabela 10).

A energia disponível (concentrados ou volumosos de elevada qualidade) para a produção de proteína microbiana eleva a produção de leite e a produção de proteína do leite (CARVALHO, 2000). Quanto mais energia estiver a disposição do animal, mais aminoácidos serão poupados da gliconeogênese, permitindo que estes sejam aproveitados em outras funções, entre elas, a produção de proteína do leite.

O tratamento 4 (grão de soja tostado) foi o de menor média de percentual de proteínas, mesmo assim, estas permaneceram bem próximas dos valores encontrados no tratamento 2 (farelo de soja).

A Figura 3, mostra as médias da proteína do leite nas ordenhas da manhã e da tarde, separadamente.

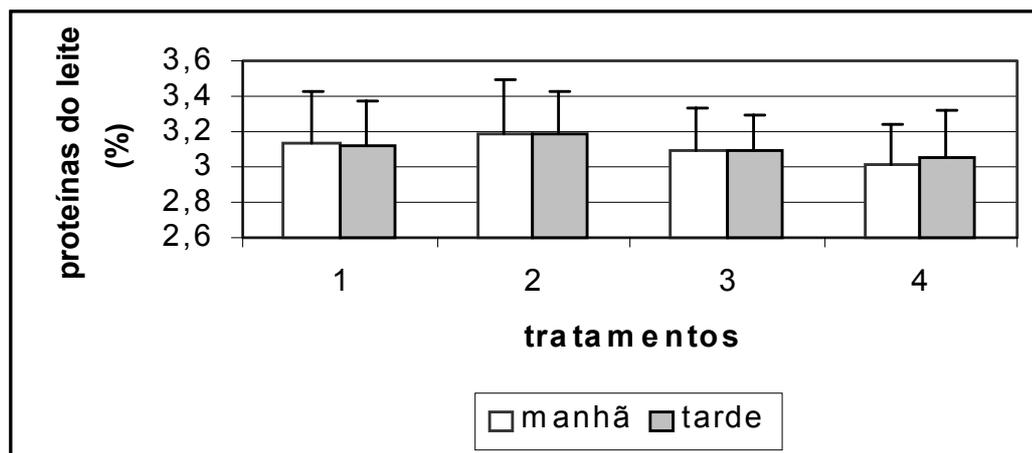


FIGURA 3. Médias e D.P. de proteínas do leite (%) nas ordenhas da manhã e da tarde nos quatro tratamentos (1: concentrado protéico; 2: farelo de soja; 3: soja crua; 4: soja tostada).

Por ter um baixo peso molecular, a uréia sanguínea atravessa o epitélio alveolar da glândula mamária difundindo-se no leite, refletindo desta maneira os níveis de uréia no plasma e o equilíbrio energia:proteína da dieta (WITTEWER, 2000).

Uma elevada concentração de uréia no leite é sinônimo de rações desequilibradas e má utilização da uréia pelos microorganismos do rúmen. Além disso, quanto maior a quantidade de uréia no leite, menor é a concentração de proteínas verdadeiras, principalmente a caseína (INTA, 1996).

Neste experimento, os valores médios da uréia obtidos das amostras de leite da ordenha da manhã estão dentro do intervalo de normalidade, em ambos os valores de referência adotados.

Já os valores médios obtidos com a ordenha da tarde, são mais elevados ficando acima dos valores de referência do laboratório da UACH (Tabela 11).

Segundo MIETTINEN e JUVONEN (1990) variações diurnas de uréia no leite são normais, sendo que as amostras coletadas no período da tarde tem valores maiores do que aquelas da ordenha da manhã, como foi comprovado no presente trabalho.

Os valores médios de uréia no leite obtidos com a ordenha da manhã, parecem demonstrarem melhor os níveis ureicos do organismo animal, uma vez que ocorre um período de jejum antecedendo o momento da coleta do material o que causa estes valores mais baixos. Na coleta da tarde (ordenha às 17:00h), os animais passaram previamente por duas alimentações no dia (após a ordenha matutina e às

13:00h) recolocando material nitrogenado na circulação e alterando seu comportamento.

Portanto sugere-se que, para ter uma visão mais confiável do *pool* nitrogenado do organismo dos animais estudados, a adoção dos valores médios de uréia no leite da ordenha da manhã podem ser utilizados isoladamente.

Os valores médios de uréia no leite das duas ordenhas diárias permaneceram dentro do intervalo de normalidade da fonte consultada (Tabela 11).

Ocorreram diferenças significativas entre os tratamentos ($P < 0,05$) nos valores de uréia na ordenha da manhã. Estas diferenças ocorreram possivelmente pela degradabilidade das fontes protéicas utilizadas nestas dietas. O concentrado protéico (tratamento 1) tem menor degradabilidade ruminal que o farelo de soja (tratamento 2) e o grão de soja cru (tratamento 3). O mesmo pode ser dito do grão de soja tostado, observando-se a média do tratamento 4.

Na ordenha da tarde não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos ($P < 0,05$). A uréia da tarde apresentou médias acima dos valores de referência preconizados pelo laboratório da UACH, de forma semelhante aos resultados da uréia no plasma.

Em relação a média dos valores da uréia no leite das ordenhas da manhã e da tarde, foi encontrada apenas uma pequena elevação nos tratamentos 2 (farelo de soja) e 3 (grão de soja cru) em relação aos valores preconizados pela UACH.

Ao considerar a média de uréia no leite durante o dia, observa-se um comportamento semelhante à uréia no leite do período da manhã, quer dizer, observa-se diferenças significativas entre os tratamentos ($P < 0,05$). A Figura 4 mostra as médias do nitrogênio ureico nos quatro tratamentos, nas ordenhas da manhã e da tarde, separadamente.

TABELA 11. Médias e desvio padrão (D.P.) de uréia (mmol/l) das ordenhas da manhã e da tarde e a média das duas ordenhas, dos animais estudados nos tratamentos 1, 2, 3 e 4.

Tratamento	Manhã		Tarde		Média total	
	Média	D. P.	Média	D. P.	Média	D. P.
1 (concentrado protéico)	5,71 ^b	1,37	7,06	0,98	6,38 ^b	1,15
2 (farelo de soja)	6,74 ^a	0,77	7,40	0,93	7,07 ^a	0,50
3 (soja crua)	6,92 ^a	1,08	7,39	0,88	7,15 ^a	0,83
4 (soja tostada)	6,26 ^{a b}	1,12	7,75	0,56	6,92 ^{a b}	0,56

^{a, b, c} – Valores com letras diferentes, têm diferença significativa entre os tratamentos (P<0,05).

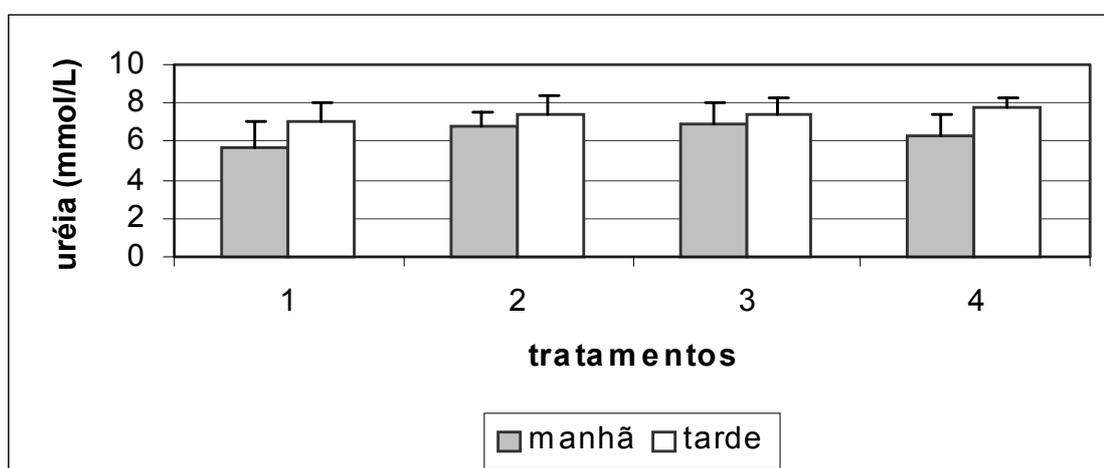


FIGURA 4. Médias e D.P. de uréia no leite nas ordenhas da manhã e da tarde nos quatro tratamentos (1: concentrado protéico; 2: farelo de soja; 3: soja crua; 4: soja tostada).

Foram observados coeficientes de correlação relativamente baixos, porém significativos (P<0,05) entre os níveis de uréia no plasma e os níveis de uréia do leite na ordenha da manhã e na média das ordenhas do dia, mas não na ordenha da tarde (Tabela 12).

Estes valores de correlação, baixos comparados com outros autores (WITTEW, 1993) pode ser atribuído ao momento da coleta em relação ao horário da alimentação (SCHEPERS e MEIJER, 1998).

Segundo MOORE e VARGA (1996), vários fatores podem interferir nos valores de uréia no leite: o momento da coleta de amostras em relação ao momento

da alimentação e horário da ordenha, relação energia:proteína da dieta, fase da lactação, parição, mastites, massa muscular, estação do ano, armazenamento das amostras.

Acredita-se que, no presente trabalho, ocorreram interferências do momento das coletas e do horário da alimentação nos resultados encontrados da uréia do leite na ordenha da tarde.

O pico de amônia no rúmen acontece entre 1h e 30min a 2h após a ingestão do alimento. Já o pico de uréia no plasma acontece ao redor de 2h a 3h após o pico de amônia no rúmen. O pico de uréia no leite será de 1h e 30min. a 2h após o pico de uréia no plasma. Sendo assim, ao redor de 5 horas após a alimentação ocorre o pico de uréia no leite (MOORE e VARGA, 1996).

Neste experimento, o alimento era oferecido aos animais a partir das 13:30h, sem limite de horário para o consumo. Alguns animais comiam até poucos minutos antes do horário da ordenha (a partir da 17:30hs). Sendo assim, ocorre um intervalo de cerca de 5h entre a alimentação e a ordenha (os animais deste experimento eram ordenhados por último) exatamente no momento do pico de uréia no leite.

TABELA 12. Coeficiente de correlação e valores de P entre os valores de uréia do plasma e os valores de uréia do leite das ordenhas da manhã, da tarde e valores médios das duas ordenhas.

	Uréia do leite manhã	Uréia do leite tarde	Média das ordenhas
Uréia do plasma	0,33	0,24	0,36
Valores de P	0,0284	0,1066	0,0155

5. CONCLUSÕES

- 1) O tratamento que utilizou grão de soja tostado como fonte protéica foi o que apresentou o menor valor numérico das médias dos valores de uréia no plasma, o que sugere que o tratamento térmico é eficiente na diminuição da degradabilidade da proteína do grão de soja no rúmen.
- 2) Não foram observadas diferenças significativas do percentual de proteína no leite entre os tratamentos.
- 3) Os níveis de uréia no leite da ordenha da tarde foram mais elevados, quando comparados com os níveis da uréia do leite da ordenha da manhã.
- 4) Os níveis de uréia no leite da ordenha da manhã mostram o perfil nitrogenado do animal com menor interferência da alimentação.
- 5) O colesterol apresentou valores acima dos intervalos de referência. Os grãos de soja parecem oferecer fontes precursoras de colesterol em maior quantidade que o farelo de soja e concentrado protéico, em função do conteúdo de triglicerídeos nos grãos.
- 6) Com os resultados obtidos verifica-se a utilização positiva do tratamento térmico sobre os grãos de soja.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA:

- ALDRICH, C.G.; MERCHEN, N.R.; PARSONS, C.M.; HUSSEIN, H.S.; INGRAM, S.; CLODFELTER, J.R. Assessment of postruminal amino acid digestibility of roasted and extruded whole soybeans with the precision-fed rooster assay. **J. Anim. Sci.** 75: 3046-3051. 1997.
- BACH, A.; HUNTINGTON, G.B.; CALSAMIGLIA, S.; STERN, M.D. Nitrogen metabolism of early lactation cows fed diets with two different levels of protein and different amino acid profiles. **J. Dairy Sci.** 83: 2585-2595. 2000.
- BAKER, M.J.; AMOS, H.E.; NELSON, A.; WILLIAMS, C.C.; FROETSCHEL, M.A. Undegraded intake protein: effects on milk production and amino acid utilization by cows fed wheat silage. **Can. J. Anim. Sci.** 76: 367-376. 1996.
- BARCELLOS, J.O.J. O papel do fósforo na nutrição de bovinos de corte. In: GONZÁLEZ, F.D.H.; OSPINA, H.P.; BARCELLOS, J.O.J. (Eds) **Nutrição Mineral em Ruminantes**. 2ª ed. UFRGS, Porto Alegre, RS. Brasil. 1998.
- BITENCOURT, D.; XAVIER, S.S.; BRIZOLA, R. M. Rio Grande do Sul “Uma reflexão sobre a década de 90 e perspectivas do setor lácteo no ano 2000.” **EMBRAPA – Clima temperado**. 1999.
- BREVES, G.; GOFF, J.P.; SCHRODER, B.; HORST, R. L. Gastrointestinal calcium and phosphate metabolism in ruminants. In: **Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction**. Proceedings of the eighth International Symposium on Ruminant Physiology. p 135-151. 1995.
- BUTLER, W.R. Review: Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. Symposium: Optimizing Protein Nutrition for Reproduction and Lactation. **J. Dairy Sci.** 81: 2533-2539. 1998.
- CARVALHO, M.P. Manipulando a composição do leite: proteína – parte 1. Capítulo 6. **1º Curso Online Sobre Qualidade do Leite. Milk Point**. Instituto Fernando Costa. 2000.
- CHURCH, D.C. **The ruminant animal. Digestive physiology and nutrition**. A Reston Book. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey. 1988.
- CONTRERAS, P. Indicadores do metabolismo protéico utilizados nos perfis metabólicos de rebanhos. In: González, F.H.D.; Barcellos, J.O.; Ospina, H.; Ribeiro, L.A.O. (Eds) **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre, Brasil, Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2000.
- CORBELLINI, C.N. Etiopatogenia y control de hipocalcemia e hipomagnesemia em vacas lecheras. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; OSPINA, H.P.; BARCELLOS, J.O. J. (Eds) **Anais do Seminário Internacional sobre deficiências minerais em Ruminantes**. Editora da UFRGS, Porto Alegre, RS. Brasil. 1998.
- COTE, J. F., HOFF, B. Interpretation of blood profiles in problem Dairy Herds. **The Bovine Practitioner**. 26:7-11. 1991.
- DHIMAN, T.R.; SATTER, L.D. Effect of ruminally degraded protein on protein available at the intestine assessed using blood amino acid concentrations. **J. Anim. Sci.** 75: 1674-1680. 1997.
- ELROD, C.C.; BUTLER, W.R. Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. **J. Anim. Sci.** 71: 694_701. 1993.

- FAJARDO, H., VIAMONTE, M. Algunas alteraciones metabólicas asociadas a la infertilidad de los ruminantes. **Ver. Cubana Cienc. Vet.** 23:33-44. 1992.
- FALDET, M.A.; SATTER, L.D. Feeding heat-treated full fat soybeans to cows in early lactation. **J. Dairy Sci.** 74: 3047-3054. 1991.
- FALDET, M. A., SON, Y. S.; SATTER L. D. Chemical, in vitro, and in vivo evaluation of soybeans heat-treated by various processing methods. **J Dairy Sci** 75:789-795. 1992.
- FALDET, M.A., VOSS, V. L., BRODERICK, G. A.; SATTER, L.D. Chemical, in vitro, and in situ evaluation of heat-treated soybean proteins. **J Dairy Sci** 74:2548-2554. 1991.
- FERGUSON, J.D. Milk urea nitrogen. **Center of Animal Health and Productivity.** School of Veterinary Medicine, University of Pennsylvania. 1996.
- FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. Conceitos básicos sobre composição do leite e métodos utilizados. **1º Curso Online Sobre Qualidade do Leite. Capítulo 3. Milk Point.** Instituto Fernando Costa. 2000.
- FREDEEN, A. Considerations in the nutritional modification of milk composition. **Animal Feed Science Technology.** 59:185-197. 1996.
- GALLARDO, M.R.; ONETTI, S.G.; CASTILLO, A.R.; NARI, J.O. Proteína en leche y su relación con el manejo nutricional. **Informe Técnico nº 56. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA).** Estación Experimental Agropecuaria Rafaela. 1996.
- GARCIA, A. Dosificación de la urea en la leche para predecir el balance nutricional en vacas lecheras. **XXV Jornadas Uruguayas de Buiatria / IX Congreso Latinoamericano de Buiatria.** Paysandú, junho de 1997.
- GARCIA-BOJALIL, C.M.; STAPLES, C.R.; RISCO, C.A.; SAVIO, J.D.; THATCHER, W.W. Protein degradability and calcium salts of long-chain fatty acids in the diets of lactating dairy cows: productive responses. **J. Dairy Sci.** 81: 1374-1384. 1998.
- GARTHWAITE, B. D., SCHWAB, C. G., SLOAN, B. K. Amino acid nutrition of the early lactation cow. **Proc. Cornell Nutr. Conf.** 1998.
- GONZÁLEZ, F. H. D. Indicadores sanguíneos do metabolismo mineral em ruminantes. In: GONZÁLEZ, F.H.D., BARCELLOS, J.O., OSPINA, H., RIBEIRO, L.A.O. (Eds) **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais.** Porto Alegre, Brasil, Gráfica da UFRGS. 2000.
- GONZÁLEZ, F. D. H. O perfil metabólico no estudo de doenças da produção em vacas leiteiras. **Arq. Fac. Vet. UFRGS.** 25(2): 13-33. 1997.
- GONZÁLEZ, F. H. D., ROCHA, J. A. R. Variations in the metabolic profile of Holstein cows of different milk yields in southern Brazil. **Arq. Fac. Vet. UFRGS** 26 (1):52-64. 1998.
- GONZÁLEZ, F.D.H.; ROCHA, J.A.; VALLE, S.F.; ROSSATO, W.; DIAS, M.M.; RICCÓ, D. Valores de referência de bioquímica sanguínea e hemograma em vacas leiteiras no RGS. In: **Iº Salão de Extensão de UFRGS.** P.A. Anais. V.1: 237-237. UFRGS. 1999.
- GOTTSCHELL, C. Alimentação da vaca leiteira visando a máxima produção de leite e desempenho reprodutivo. **A Hora veterinária.** 110: 66-70. 1999.

- GRIFFIN, C.D.; BUNTING, L.D.; STICKER, L.S.; VORA, B. Assessment of protein quality in heat-treated soybean products using the growth responses of lambs and calves and a nylon bag-rooster assay. **J. Anim. Sci.** 71: 1924-1931. 1993.
- HAMANN, J.; KRÖMKER, V. Potential of specific milk composition variables for cow health management. **Livestock Production Science.** 48: 201-208. 1997.
- HERKELMAN, K.L.; CROMWELL, G.L.; STAHLY, T.S.; PFEIFFER, T.W.; KNABE, D.A. Apparent digestibility of amino acids in raw and heated conventional and low-trypsin-inhibitor soybeans for pigs. **J. Anim. Sci.** 70: 818-826. 1992.
- HOF, G., VERVOORN, M. D., LENAERS, P. J., TAMMINGA, S. Milk urea nitrogen as a tool to monitor the protein nutrition of dairy cows. **J. Dairy Sci.** 80: 3333-3340. 1997.
- HONGERHOLT, D.D.; MULLER, L.D. Supplementation of rumen-undegradable protein to the diets of early lactation holstein cows on grass pasture. **J. Dairy Sci.** 81: 2204-2214. 1998.
- HSU, J.T.; SATTER, L. D. Procedures for measuring the quality of heat-treated soybeans. **J Dairy Sci** 78:1353-1361. 1995.
- HUYLER, M.T.; KINCAID, R.L.; DOSTAL, D.F. Metabolic and yield responses of multiparous holstein cows to prepartum rumen-undegradable protein. **J. Dairy Sci.** 82: 527-536. 1999.
- INTA. Proteína en leche y su relación con el manejo nutricional. **Estación Experimental Agropecuaria Rafaela. Informe Técnico.** 56. 1996.
- KANEKO, J.J. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals.** 4th ed. San Diego. Academic Press, Inc. 1989.
- KANEKO, J. J., HARVEY, J. W., BRUSS, M. L. (eds) **Clinical biochemistry of domestic animals.** (5th ed.), New York, Academic Press, 1997.
- KEERY, C.M.; AMOS, H.E.; FROETSCHER, M.A. Effects of supplemental protein source on intraruminal fermentation, protein degradation, and amino acid absorption. **J. Dairy Sci.** 76:514-524. 1993.
- KNAPP, D. M., GRUMMER, R. R.; DENTINE, M.R. The response of lactating dairy cows to increasing levels of whole roasted soybeans. **J Dairy Sci** 74:2563-2572. 1991.
- MARCOS, E. R. Determinación de parámetros sanguíneos relacionados con el funcionamiento hepático en ganado lechero. II. Proteínas totales, albumina y globulinas. **Gaceta Vet.** 44:49-56. 1982.
- MARQUEZ, A.C.; RADEMACHER, M.A. Indicadores bioquímicos sanguíneos de los desequilibrios energéticos en ganado lechero. In: **Memórias del Seminário Internacional en Reproducción y metabolismo de la Vaca Lechera.** Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Manizales, Colombia. septiembre de 1999.
- MIETTINEN, P.V.A.; JUVONEN, R.O. Diurnal variations of serum and milk urea levels in dairy cows. **Acta Agric. Scand.** 40. 1990.
- MOORE, D. A.; VARGA, G. BUN and MUN: urea nitrogen testing in dairy cattle. **The Compendium** 18:712-720. 1996.
- MOSIMANYANA, B.M.; MOWAT, D. N. Rumen protection of heat-treated soybean proteins. **Can. J. Anim. Sci.** 72:71-81. 1992.

- MUHLBACH, P.R.F.; OSPINA, H.; PRATES, E.R.; BARCELLOS, J.O.J. Aspectos nutricionais que interferem na qualidade do leite. **II Encontro Anual da UFRGS Sobre Nutrição de Ruminantes**. Gráfica da UFRGS. 2000.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. Seventh revised edition. National Academy Press. Washington, D. C. 2001.
- OVERTON, T. R.; CHASE, L. E. Amino acids in dairy nutrition – where do they fit? **Department of Animal Science. Cornell University**. 1999.
- PAYNE, J. M., DEW, S. M., MASTON, R., FAULKES, M. The use of metabolic test in dairy herds. **Vet. Rec.**87:150-157.1970.
- PAYNE, J. M., PAYNE, S. The Metabolic Profile Test. **Oxford University Press**. New York, 1987.
- PUTNAM, D. E.; VARGA, G. A. Supplemental protein in close-up rations reviewed. **Feedstuffs**. 1997.
- REDDY, P. V.; MORRILL, J. L. Effect of roasting temperatures on soybean utilization by young dairy calves. **J Dairy Sci** 76:1387-1393. 1993.
- RODRIGUES, P.H.M. Fatores não microbiológicos afetando a acidez do leite e outras características. **1º Curso Online Sobre Qualidade do Leite. Capítulo 4. Milk Point**. Instituto Fernando Costa. 2000.
- SANSON, B.F. Clinical problems in preventive medicine. **Br. Vet. J.** 129: 207-220. 1973.
- SANTOS, F.A.P.; JUCHEN, S.O. Nutrição de vacas de alta produção de leite. **Simpósio Internacional Sobre Produção de Bovinos Leiteiros**. Carambei, Paraná. Agosto d 2000.
- SANTOS, F.A.P.; SANTOS, J.E.P.; THEURER, C.B.; HUBER, J.T. Nutrition, feeding, and calves. Effects of rumen-undegradable protein on dairy cow performance: a 12-year literature review. **J. Dairy Sci.** 81: 3182-3213. 1998.
- SCHEPERS, A.J.; MEIJER, R.G.M. Evaluation of the utilization of dietary nitrogen by dairy cows based on urea concentration in milk. **J. Dairy Sci.** 81: 579-584.1998.
- SHAVER, R. Proteínas de soya para vacas en lactación. **Alimentos Balanceados para Animales**. Jul/ago, p. 14-17. 1999.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. SAS User Guide Cary, NC, USA. 1989-1996.
- STERN, M.D.; SANTOS, K.A.; SATTER, L.D. Protein degradation in rumen and amino acid absorption in small intestine of lactating dairy cattle fed heat-treated whole soybeans. **J. Dairy Sci.** 68: 45-56. 1985.
- TENNANT, B. C. Hepatic function. In: KANEKO, J. J., HARVEY, J. W., BRUSS, M. L. (eds) **Clinical biochemistry of domestic animals**. (5th ed.), New York, Academic Press, 1997.
- TICE, E.M.; EASTRIDGE, M.L.; FIRKINS, J.L. Raw soybeans and roasted soybeans of different particles sizes. 1. Digestibility and utilization by lactating cows. **J. Dairy Sci.** 76: 224-235. 1993.
- TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J.; MORAES, S.S. Situação atual e perspectivas da investigação sobre nutrição mineral em bovinos no Brasil. **Pesq. Vet. Bras.** 8 (1/2): 1-16. 1988.
- VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2nd ed. Cornell Universty Press. 1994

- WESTWOOD, C. T., LEAN, I. J., KELLAWAY, R. C. Indications and implications for testing of milk urea in dairy cattle: A quantitative review. Part 1. Dietary protein sources and metabolism. **N. Z. Vet. J.** 46:87-96. 1998.
- WHITAKER, D.A. Are links between blood urea and fertility in cattle a diversion from reality? **BCVA.** 6(4): 399-403. 1998.
- WITWER, F. Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. In: González, F. H. D., Barcellos, J. O., Ospina, H., Ribeiro, L. A. O. (Eds) **Perfil metabólico em ruminantes : seu uso em nutrição e doenças nutricionais.** Porto Alegre, Brasil, Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2000a.
- WITWER, F. Marcadores bioquímicos no controle de problemas metabólicos nutricionais em gado de leite. In: González, F.H.D.; Barcellos, J.O.; Ospina, H.; Ribeiro, L.A.O. (Eds) **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais.** Porto Alegre, Brasil, Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2000b.
- WITWER, F. Empleo de los perfiles metabólicos en el diagnóstico de desbalances metabólicos nutricionales en el ganado. **Buiatria.** 2:16-20.1995.
- WITWER, F., BÖHMWALD, H., CONTRERAS, P.A., FILOZA, J. Análisis de los resultados de perfiles metabólicos en rebaños lecheros en Chile. **Arch. Med. Vet.** T.M. 19(2):35-45.1987.
- WITWER, F., CONTRERAS, P. A. Consideraciones sobre el empleo de los perfiles metabólicos en ganado lechero. **Arch. Med. Vet.**12(1): 180-188. 1980.
- WITWER, F.; CONTRERAS, P.A.; SILVA, N.; BÖHMWALD, T.M. Efecto de la suplementación con magnesio en alimento y agua sobre el control de tetania hipomagnésica en rebaños Hereford. **Arch. Med. Vet.** 29 (1):25-33.1997.
- WITWER, F.; GALLARDO, P.; SAELZER, P.; KNOPEL. Concentración de úrea en muestras de leche de estanque y su asociación con la actividad reproductiva en rebaños bovinos. In: JORNADAS LATINOAMERICANAS DE BUIATRIA, 8, 1996, Osorno, **Resúmenes.** Osorno Chile. P. 125. 1996.
- WITWER, F. G.; GALLARDO, P.; REYES, J.; OPITZ, H. Bulk milk urea concentrations and their relationship with cow fertility in grazing dairy herds in southern Chile. **Preventive Veterinary Medicine.** 38: 159-166. 1999.
- WITWER, F.; REYES, J. M.; OPTIZ, H. et al. Determinación de urea en muestras de leche de rebaños bovinos para el diagnóstico de desbalance nutricional. **Arch. Med. Vet.** 25:165-172. 1993.
- WRIGHT, T.C.; MOSCARDINI, S.; LUIMES, P.H.; SUSMEL, P. and McBRIDE, W. Effects of rumen-undegradable protein and feed intake on nitrogen balance and milk protein production in dairy cows. **J. Dairy Sci.** 81: 784-793. 1998.

ANEXOS

ANEXO 1 Tabelas dos metabólitos analisados, dados de produção e de reprodução.

A seguir estão relacionadas as tabelas que contém os valores dos metabólitos analisados, separados por metabólitos, animal e tratamentos.

Valores plasmáticos de ALBUMINA (g/l).

Vacas	T1	T2	T3	T4
78	35	36	33	36
152	39	40	36	38
230	37	32	38	33
237	38	44	45	40
238	42	40	40	47
248	35	33	41	38
253	37	37	35	33
259	39	39	41	35
260	41	40	40	42
261	40	41	37	40
262	45	36	31	42
Média	38,90909	38	37,90909	38,54545
DP	3,015113	3,577709	4,0362	4,251203

Valores plasmáticos de GLOBULINAS (g/l).

Vacas	T1	T2	T3	T4
78	69	59	63	53
152	61	70	66	52
230	60	68	40	68
237	60	37	55	57
238	31	57	53	51
248	76	75	59	46
253	59	74	48	75
259	51	46	28	47
260	58	36	58	56
261	47	43	55	40
262	36	52	55	64
Média	55,27273	56,09091	52,72727	55,36364
DP	13,28225	14,42536	10,77117	10,25936

Valores plasmáticos de PROTEÍNAS TOTAIS (g/l).

Vacas	T1	T2	T3	T4
78	104	95	96	89
152	100	110	102	90
230	97	100	78	101
237	98	81	100	97
238	73	97	93	98
248	111	108	100	84
253	96	111	83	108
259	90	86	69	82
260	99	76	98	98
261	87	84	92	80
262	81	88	86	106
Média	94,18182	94,18182	90,63636	93,90909
DP	10,74075	12,16403	10,50022	9,544156

Valores plasmáticos de URÉIA (mmol/l).

Vacas	T1	T2	T3	T4
78	6,62	6,59	6,65	5,76
152	7,86	6,93	7,23	7,1
230	6,58	8,36	7,06	6,51
237	7,93	7,6	8,02	8,46
238	5,41	7	7,73	6
248	6,42	7,89	7	7,51
253	7,77	5,39	7,65	7,08
259	8,06	5,77	7,33	5,48
260	8,68	8,47	7,84	7,82
261	7,34	8,24	7,64	6,7
262	7	8,73	8,28	6,77
Média	7,242727	7,360909	7,493636	6,835455
DP	0,937882	1,119745	0,485474	0,895191

Valores plasmáticos de GLICOSE (mmol/l).

Vacas	T1	T2	T3	T4
78	6,52	3,8	4,48	3,63
152	4,18	3,72	4,23	3,14
230	3,6	4,74	3,1	3,44
237	3,39	3,19	4,25	3,86
238	3,17	3,66	3,46	4,35
248	4,12	3,01	3,86	3,57
253	4,24	6,86	3,36	3,68
259	4,62	4,22	3,05	3,31
260	3,18	3,17	4,56	3,91
261	3,78	2,81	3,62	3,63
262	2,51	3,85	2,41	3,84
Média	3,937273	3,911818	3,670909	3,669091
DP	1,046796	1,1264	0,676305	0,325836

Valores plasmáticos de BETA-HIDROXIBUTIRATO (mmol/l).

Vacas	T1	T2	T3	T4
78	0,422	0,311	0,427	0,347
152	0,499	0,272	0,252	0,428
230	0,273	0,517	0,329	0,231
237	0,329	0,225	0,535	0,277
238	0,398	0,358	0,306	0,43
248	0,615	0,409	0,335	0,406
253	0,286	0,427	0,291	0,322
259	0,306	0,507	0,412	0,394
260	0,363	0,275	0,577	0,423
261	0,306	0,342	0,383	0,291
262	0,245	0,357	0,449	0,393
Média	0,367455	0,363636	0,390545	0,358364
DP	0,110496	0,094305	0,101991	0,069086

Valores plasmáticos de COLESTEROL (mmol/l).

Vacas	T1	T2	T3	T4
78	3,81	5,1	7,49	5,43
152	3,83	4,54	5,78	5,27
230	9,4	4,17	7,12	7,09
237	5,3	5,65	5,59	5,57
238	6,02	5,08	6,51	6,71
248	4,03	5,25	6,15	7,25
253	5,78	4,49	7,16	7,22
259	6,59	5,59	7,6	7,24
260	5,93	5,6	8,08	6,32
261	5,78	5,85	6,4	6,52
262	4,46	3,78	4,09	4,86
Média	5,539091	5,009091	6,542727	6,316364
DP	1,609997	0,676764	1,130204	0,88853

Valores plasmáticos de ASPARTATO AMINOTRANSFERASE (AST) (U/l).

Vacas	T1	T2	T3	T4
78	41,2	50,6	60	63,9
152	71,3	74,1	67	73,3
230	64,6	76,2	72,3	94,2
237	69,4	61	53,4	73,7
238	58,5	76,6	79,5	60,1
248	67,1	70,3	75,6	70,5
253	62,8	45,7	79,3	95,5
259	82,4	76,6	82,7	77,1
260	68,4	68,1	83,6	82
261	69,2	89,6	90,4	94,4
262	83,4	84,7	67,9	45,2
Média	67,11818	70,31818	73,79091	75,44545
DP	11,39437	13,39051	10,98494	15,73076

Valores plasmáticos de CÁLCIO (mmol/l).

Vacas	T1	T2	T3	T4
78	2,08	1,98	1,92	2,32
152	1,9	1,92	1,98	2,25
230	2	1,77	2	2,2
237	2,08	1,42	2,02	1,98
238	1,84	1,92	1,98	2
248	1,88	2,02	2,28	2,2
253	1,9	1,97	2,25	2,08
259	2,3	1,87	1,6	1,98
260	2,08	2,35	2	2,05
261	2,32	2,32	2,32	2,18
262	4,09	1,88	2,38	2,2
Média	2,224545	1,947273	2,066364	2,130909
DP	0,639146	0,250882	0,225134	0,117682

Valores plasmáticos de FÓSFORO (mmol/l).

Vacas	T1	T2	T3	T4
78	2,81	3,16	2,91	2,26
152	3,33	2,29	2,52	1,97
230	3,07	2,68	2,07	2,65
237	3,26	1,87	3,2	3,58
238	2,1	3,26	3,39	3,26
248	3,62	2,2	2,87	2,2
253	1,61	3,13	2,07	3,1
259	1,39	2,87	1,81	3,04
260	3,16	1,39	2,49	2,81
261	3,26	1,84	2,91	3,16
262	1,52	2,36	3,52	2,87
Média	2,648182	2,459091	2,705455	2,809091
DP	0,82814	0,614759	0,563708	0,496416

Valores plasmáticos de MAGNÉSIO (mmol/l).

Vacas	T1	T2	T3	T4
78	1,19	0,9	1,07	0,94
152	1,11	0,86	1,03	1,03
230	1,03	1,19	1,07	1,07
237	0,86	1,27	1,03	1,15
238	0,99	1,15	1,07	1,03
248	1,19	1,11	1,12	1,19
253	1,07	0,82	1,4	0,94
259	1,23	0,99	1,44	1,19
260	0,94	1,15	1,19	1,11
261	0,99	1,19	1,11	0,78
262	0,78	1,23	0,94	1,03
Média	1,034545	1,078182	1,133636	1,041818
DP	0,142012	0,158102	0,154872	0,122786

Valores de PROTEÍNA DO LEITE (%).

Valores de proteína do leite da ordenha da manhã:

Vacas	T1	T2	T3	T4
78m	3,68	3,22	3,34	xxxxxxx
152m	3,13	2,74	2,99	3,06
230m	3,05	Xxxxxxx	3,11	3,01
237m	2,97	2,93	xxxxxxx	3,14
238m	3,42	3,46	3,16	3,35
248m	3,56	3,34	3,64	3,2
253m	2,88	3,85	2,92	2,61
259m	2,98	3,19	2,98	2,71
260m	2,86	3,08	2,9	2,98
261m	3,04	3,01	3,15	3,12
262m	2,95	3,13	2,85	3,03
Média	3,13818	3,195	3,104	3,021
DP	0,28304	0,30729	0,23959	0,21941

Valores de proteína do leite da ordenha da tarde:

Vacas	T1	T2	T3	T4
78t	3,49	3,26	3,28	3,07
152t	3,16	2,78	3,1	2,8
230t	3,18	3,21	3,16	2,81
237t	2,96	2,97	xxxxxxx	3,36
238t	xxxxxxx	3,49	3,26	3,42
248t	3,56	3,36	3,41	3,1
253t	2,96	3,54	2,79	2,65
259t	3,21	Xxxxxxx	2,92	2,81
260t	2,99	2,93	3,08	3,24
261t	2,95	3,1	3,21	3,22
262t	2,79	3,21	2,88	3,22
Média	3,125	3,185	3,109	3,06363
DP	0,24708	0,24473	0,19615	0,25796

Valores médios de proteína do leite da ordenha da manhã e da tarde:

Vacas	T1	T2	T3	T4
78	3,58	3,24	3,31	3,07
152	3,14	2,76	3,04	2,93
230	3,11	3,21	3,13	2,91
237	2,96	2,95	xxxxxxx	3,25
238	3,42	3,47	3,21	3,38
248	3,49	3,35	3,52	3,15
253	2,92	3,69	2,85	2,63
259	3,09	3,19	2,95	2,76
260	2,92	3	2,99	3,11
261	2,99	3,05	3,18	3,17
262	2,87	3,17	2,86	3,12
Média	3,13545	3,18909	3,104	3,04363
DP	0,24945	0,25602	0,21030	0,21823

Valores de URÉIA NO LEITE (mmol/l).

Valores de uréia no leite da ordenha da manhã:

Vacas	T1	T2	T3	T4
78m	3,36	6,65	6,29	5,4
152m	7,27	7,21	7,14	8,3
230m	4,9	7,5	6,35	6,09
237m	7,93	6,32	6,98	8,16
238m	5,1	7,34	8,16	5,56
248m	4,51	5,17	5,56	5,92
253m	5,86	7,18	6,16	6,25
259m	6,45	7,87	5,66	6,42
260m	6,16	6	9,08	6,75
261m	6,78	6,62	7,01	4,9
262m	4,44	6,32	7,77	5,1
Média	5,705455	6,743636	6,923636	6,259091
DP	1,37415	0,775671	1,082694	1,122795

Valores de uréia no leite da ordenha da tarde:

Vacas	T1	T2	T3	T4
78t	6,02	7,97	7,44	8,3
152t	8,85	7,31	5,92	6,58
230t	6,09	6,12	6,58	6,98
237t	8,52	8,06	8,23	8,46
238t	6,78	6,19	7,04	7,93
248t	6,29	6,52	7,57	8,16
253t	7,11	7,08	6,45	7,64
259t	7,08	7,14	7,5	7,74
260t	6,94	8,49	9,12	8,06
261t	7,87	9,02	7,63	7,87
262t	6,12	7,57	7,8	7,57
Média	7,060909	7,406364	7,389091	7,753636
DP	0,979106	0,930401	0,882853	0,558915

Valores médios da uréia do leite das ordenhas da manhã e da tarde:

Vacas	T1	T2	T3	T4
78	4,69	7,31	6,87	6,85
152	8,06	7,26	6,53	6,53
230	5,5	6,81	6,47	6,54
237	8,23	7,19	7,61	8,31
238	5,94	6,77	7,6	6,75
248	5,4	5,85	6,57	7,04
253	6,49	7,13	6,31	6,95
259	6,77	7,51	6,58	7,08
260	6,55	7,25	9,1	7,41
261	7,33	7,82	7,32	6,39
262	5,28	6,95	7,79	6,34
Média	6,385455	7,077273	7,159091	6,926364
DP	1,154759	0,505966	0,833444	0,562161

ANEXO 2. ANÁLISES ESTATÍSTICAS.

ANEXO 2.1 ANÁLISE ESTATÍSTICA ENTRE OS TRATAMENTOS.

ALBUMINA.

Tests of Fixed Effects				
Source	NDF	DDF	TYPE III F	P > F
TRAT	3	27	0.54	0.6601
PERIODO	3	27.2	3.19	0.0393

GLOBULINAS.

Tests of Fixed Effects				
Source	NDF	DDF	TYPE III F	P > F
TRAT	3	27	0.72	0.5492
PERIODO	3	27.1	35.13	0.0001

PROTEÍNAS TOTAIS.

Tests of Fixed Effects				
Source	NDF	DDF	TYPE III F	P > F
TRAT	3	27	1.05	0.3880
PERIODO	3	27.2	30.99	0.0001

URÉIA NO PLASMA.

Tests of Fixed Effects				
Source	NDF	DDF	TYPE III F	P > F
TRAT	3	27	1.66	0.1998
PERIODO	3	27.3	0.90	0.4555

GLICOSE.

Tests of Fixed Effects				
Source	NDF	DDF	TYPE III F	P > F
TRAT	3	27	0.66	0.5812
PERIODO	3	27.3	17.77	0.0001

BETA-HIDROXIBUTIRATO.

Tests of Fixed Effects				
Source	NDF	DDF	TYPE III F	P > F
TRAT	3	27	0.33	0.8033
PERIODO	3	27.7	12.92	0.0001

COLESTEROL.

Tests of Fixed Effects				
Source	NDF	DDF	TYPE III F	P > F
TRAT	3	27	6.95	0.0013
PERIODO	3	27.3	2.60	0.0724

Differences of Least Squares Means							
Effect	Trat	Trat	difference	Std error	DF	t	P > /t/
TRAT	1	2	0.51784853	0.36916194	27	1.40	0.1721
TRAT	1	3	-0.97950755	0.36901486	27	-2.65	0.0132
TRAT	1	4	-0.73824928	0.37069303	27	-1.99	0.0561
TRAT	2	3	-1.49735608	0.36914469	27	-4.06	0.0004
TRAT	2	4	-1.25609781	0.36902711	27	-3.40	0.0021
TRAT	3	4	0.24125827	0.37210350	27	0.65	0.5222

ASPARTATO AMINOTRANSFERASE.

Tests of Fixed Effects				
Source	NDF	DDF	TYPE III F	P > F
TRAT	3	27	1.09	0.3689
PERIODO	3	27.4	1.89	0.1552

CÁLCIO.

Tests of Fixed Effects				
Source	NDF	DDF	TYPE III F	P > F
TRAT	3	27	1.44	0.2519
PERIODO	3	27.5	1.21	0.3237

FÓSFORO.

Tests of Fixed Effects				
Source	NDF	DDF	TYPE III F	P > F
TRAT	3	34.8	1.59	0.2095
PERIODO	3	34.9	18.24	0.0001

MAGNÉSIO.

Tests of Fixed Effects				
Source	NDF	DDF	TYPE III F	P > F
TRAT	3	37	0.83	0.4834
PERIODO	3	37	1.37	0.2677

PROTEÍNA DO LEITE.**Proteína do leite da ordenha da manhã:**

Tests of Fixed Effects				
Source	NDF	DDF	TYPE III F	P > F
TRAT	3	24.6	1.58	0.2206
PERIODO	3	24.5	7.26	0.0012

Proteína do leite da ordenha da tarde:

Tests of Fixed Effects				
Source	NDF	DDF	TYPE III F	P > F
TRAT	3	24.4	2.15	0.1192
PERIODO	3	24.4	21.00	0.0001

Proteína do leite, médias das ordenhas:

Tests of Fixed Effects				
Source	NDF	DDF	TYPE III F	P > F
TRAT	3	26.2	1.94	0.1481
PERIODO	3	26.2	13.02	0.0001

UREIA DO LEITE.**Uréia do leite, ordenha da manhã:**

Tests of Fixed Effects				
Source	NDF	DDF	Type III F	P > F
TRAT	3	26.9	4.10	0.0161
PERIODO	3	27.3	2.24	0.1065

Differences of Least Squares Means							
Effect	TRAT	TRAT	Difference	Std Error	DF	t	P > t/
TRAT	1	2	-1.05904617	0.40600520	26.9	-2.61	0.0147
TRAT	1	3	-1.30751120	0.40584515	26.9	-3.22	0.0033
TRAT	1	4	-0.53213109	0.40767580	26.9	-1.31	0.2028
TRAT	2	3	-0.24846504	0.40597315	26.9	-0.61	0.5457
TRAT	2	4	0.52691508	0.40585849	26.9	1.30	0.2052
TRAT	3	4	0.77538012	0.40920638	26.9	1.89	0.0689

Uréia do leite, ordenha da tarde:

Tests of Fixed Effects				
Source	NDF	DDF	TYPE III F	P > F
TRAT	3	26.9	1.38	0.2708
PERIODO	3	27.3	0.42	0.7430

Uréia do leite, médias das ordenhas:

Tests of Fixed Effects				
Source	NDF	DDF	TYPE III F	P > F
TRAT	3	26.9	2.94	0.0514
PERIODO	3	27.3	1.78	0.1750

Differences of Least Squares Means							
Effect	TRAT	TRAT	Difference	Std Error	DF	t	P > /t/
TRAT	1	2	-0.69832320	0.30063448	26.9	-2.32	0.0280
TRAT	1	3	-0.82925780	0.30051583	26.9	-2.76	0.0103
TRAT	1	4	-0.52472428	0.30187256	26.9	-1.74	0.0936
TRAT	2	3	-0.13093460	0.30061178	26.9	-0.44	0.6666
TRAT	2	4	0.17359892	0.30052572	26.9	0.58	0.5683
TRAT	3	4	0.30453352	0.30300753	26.9	1.01	0.3238

COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO.

Coefficientes de Correlação e valores de P entre os valores de uréia do plasma e os valores de uréia do leite das ordenhas da manhã, da tarde e média das duas ordenhas:

Em conjunto:

	Uréia do leite manhã	Uréia do leite tarde	Média ordenhas
Uréia do plasma	0.33058	0.24658	0.36296
P (0.005)	(0.0284)	(0.1066)	(0.0155)