

Transtornos metabólicos que afetam a qualidade do leite*

Introdução

A qualidade dos componentes nutricionais presentes no leite tem sido uma preocupação constante para produtores de leite, indústrias e órgãos governamentais responsáveis pelo controle e fiscalização da produção de alimentos. Os produtores são cobrados pelas indústrias e órgãos de fiscalização federal para que produzam leite com limites mínimos e/ou máximos para gordura, proteína, lactose, células somáticas (CS) e contagem bacteriana total (CBT) para proporcionar rendimento industrial e laticínios que ofereçam segurança alimentar e características que possam atender ao gosto do consumidor. Muito tem se falado sobre a Instrução Normativa nº 51, que regulamenta a produção, identidade, qualidade, coleta e transporte do leite A, B, C, pasteurizado e cru refrigerado. Esforços têm sido direcionados para resolver problemas de qualidade de ordem higiênica e sanitária do leite que são tão importantes quanto à qualidade de seus componentes nutricionais, que até o momento, tem estado em segundo plano.

A síntese dos componentes lácteos pela glândula mamária sofre influência de uma série de fatores sendo a alimentação e as condições metabólicas dos animais os mais relevantes.

Este texto foi construído através de uma revisão bibliográfica abordando os principais transtornos metabólicos que afetam as vacas leiteiras e que são responsáveis por alterar a síntese dos componentes do leite. Entre as condições metabólicas das vacas leiteiras que acarretam prejuízo à produção e alteram os componentes nutricionais do leite podemos citar:

1. Balanço energético negativo.
2. Cetose.
3. Acidose ruminal.
4. Excesso de proteína na dieta.
5. Síndrome da baixa gordura no leite.
6. Instabilidade da caseína em leite sem acidez adquirida.

* Seminário apresentado pelo aluno Carlos Bondan na disciplina BIOQUÍMICA DO TECIDO ANIMAL, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no primeiro semestre de 2011. Professor responsável pela disciplina: Félix H. D. González.

Balanço energético negativo

O leite é um produto natural que contém uma série de compostos sintetizados pela glândula mamária, a partir de nutrientes derivados da digestão e posterior metabolismo. O leite também possui componentes derivados diretamente da dieta, incluindo minerais, vitaminas, metade do ácido graxo palmítico e dos ácidos graxos com mais de 18 átomos de carbono. Outros componentes do leite são ainda sintetizados por tecidos extramamários, tais como ácidos graxos derivados do tecido adiposo e algumas proteínas (Fredeen, 1996).

A proporção em que cada componente se encontra no leite sofre influência direta do *status* nutricional e metabólico da vaca leiteira. Os desequilíbrios energéticos, protéicos e minerais ocorrem com maior frequência no início da lactação, em especial nas primeiras semanas pós-parto ocasionando alterações metabólicas que ocorrem frequentemente de forma subclínica, sem o aparecimento de sintomas, a não ser decréscimo de 10 a 30% na produção e alterações na composição bioquímica do leite (González, 2004).

O balanço energético negativo (BE⁻) é um desequilíbrio nutricional caracterizado pela ingestão ou fornecimento de nutrientes, principalmente energia, menor do que as vacas necessitam para manter a produção e a qualidade bioquímica do leite. Este transtorno pode ser explicado através da curva de lactação e ingestão de matéria seca, conforme representado pela figura 1. As vacas atingem o pico de produção de leite antes do pico de ingestão de matéria seca. Os dois pontos onde as curvas de produção de leite e consumo de matéria seca se cruzam, representados na figura 1, é o período onde o consumo ou o fornecimento de nutrientes é menor do que as exigências para manutenção da produção de leite, portanto considerado como BE⁻.

Esta desordem nutricional pode acometer vacas leiteiras de alta produção e/ou quando a demanda por nutrientes para a produção de leite é maior que a quantidade de nutrientes ingeridos, fato que pode ser comprovado pela diminuição dos níveis glicêmicos sanguíneos. As vacas sob esta condição mobilizam suas reservas corporais na tentativa de compensar a hipoglicemia realizando lipomobilização e aumentando os ácidos graxos não-esterificados (AGNE) na circulação, que por sua vez, podem aumentar em até uma unidade percentual o teor de gordura no leite (González, 2004).

Aproximadamente 25% dos ácidos graxos do leite são derivados da dieta, 50% do plasma sanguíneo e o restante, 25%, são elaborados na glândula mamária a partir de precursores como o acetato e estes são denominados como a síntese do novo. A síntese de gordura pelas células mamárias utilizando precursores como o acetato originará ácidos graxos de cadeia curta e média (até 14 átomos de carbonos) enquanto que os ácidos graxos de 18 átomos de carbonos e alguns de 16 átomos de carbonos derivam quase em sua totalidade do sangue, a partir dos triglicerídeos presentes nos quilomícrons e nas lipoproteínas de baixa densidade que podem ser provenientes da lipomobilização devido ao BE⁻. Em geral, a lipomobilização contribui com

menos de 10% do total de ácidos graxos secretados no leite de ruminantes. Entretanto, quando os animais estão em BE⁻ a contribuição dos ácidos graxos oriundos da lipomobilização aumentam em proporção direta à intensidade do BE⁻ (González, 2001).

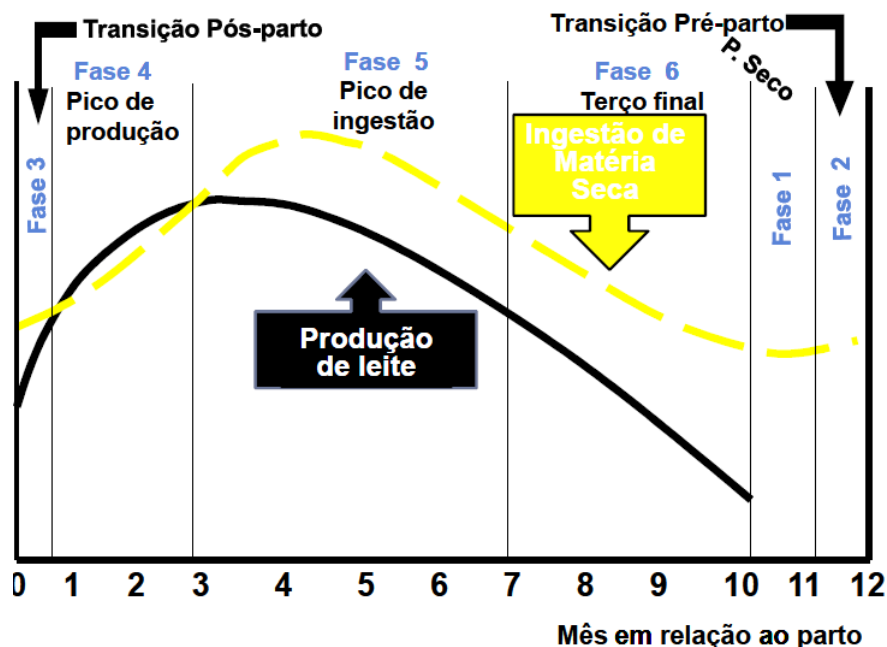


Figura 1. Relação entre período de lactação e o consumo de matéria seca e produção de leite.

No início da lactação, a proporção de ácidos graxos de cadeia curta na gordura do leite é baixa, aumentando da oitava até a décima semana de lactação, atingindo, então, mais de 90% da proporção de ácidos graxos no leite (figura 2). Isto ocorre devido à queda da ingestão de matéria seca no início da lactação ocasionando BE⁻ e proporciona maior mobilização de tecido adiposo como conseqüente incorporação de ácidos graxos de cadeia longa ao leite (Palmquist *et al.*, 1993).

A diminuição dos níveis glicêmicos e o aumento dos AGNE na circulação sanguínea, característico do BE⁻, é responsável pelo desenvolvimento de um transtorno metabólico comumente observado em vacas leiteiras no início da lactação, denominado de cetose (González *et al.*, 2009).

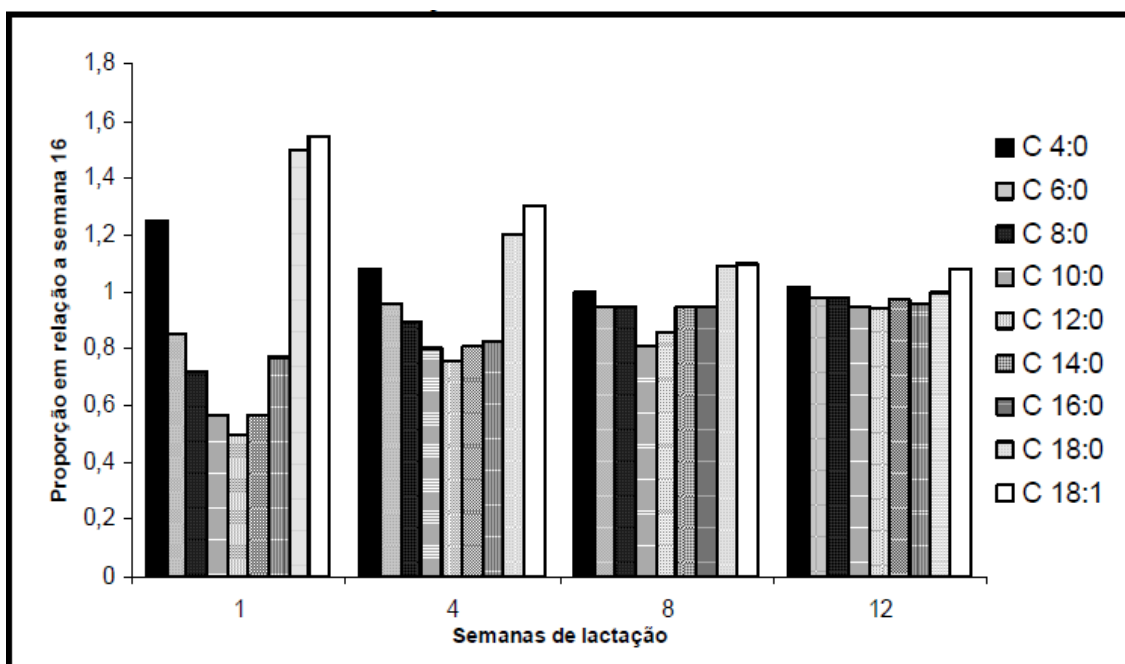


Figura 2. Concentração individual dos ácidos graxos na gordura do leite nas semanas 1, 4, 8 e 12 de lactação. Fonte: Palmquist *et al.* (1993).

Cetose

A cetose é o resultante do desequilíbrio no metabolismo hepático de carboidratos e gorduras, caracterizado pela elevação na concentração de corpos cetônicos no sangue, leite e urina (Nielsen, 2004). Tanto a cetose clínica como a subclínica também estão associadas ao aumento na concentração de AGNE e a redução na concentração de glicose sanguínea. A lipomobilização excessiva, devido ao BE^- , vai contribuir para o aumento dos ácidos graxos circulantes, precursores da gordura no leite, que por vezes pode elevar seu teor. Os efeitos desse processo sobre a gordura do leite será o aumento dos ácidos graxos de cadeia longa, que são provenientes da mobilização do tecido adiposo, e redução na síntese de ácidos graxos de cadeia curta, em função do menor aporte de precursores na glândula mamária (González, 2009).

O aumento dos AGNE na circulação é responsável por ocasionar um importante distúrbio hepático conhecido como lipídose, também denominado de fígado gorduroso. O acúmulo de lipídios no hepatócito ocorre quando a absorção de lipídios excede sua capacidade de secreção e oxidação. Os lipídios em excesso são armazenados na forma de triglicerídeos sendo associados à redução das funções metabólicas do fígado (Bobe *et al.*, 2004).

González *et al.* (2009) estudaram os indicadores sanguíneos de lipomobilização e função hepática que seriam úteis para o diagnóstico da cetose. Os dados de bioquímica sanguínea mostram que vacas leiteiras de alta produção têm alto grau de lipomobilização e risco de cetose no primeiro mês de lactação, comparando com vacas no terceiro mês de lactação. Os melhores indicadores para detecção de cetose são o beta-hidroxibutirato, a enzima AST e os

metabólitos glicose, proteína total e uréia. Os AGNE não possuem sensibilidade para detectar cetose. Campos *et al.* (2007), estudaram os componentes do leite como gordura, proteína e lactose comparando com os indicadores do metabolismo energético e não encontraram relação entre o aumento da lipomobilização e os componentes do leite, porém os resultados dos níveis de AGNE e beta-hidroxibutirato corroboram com os encontrados por González *et al.* (2009).

Acidose ruminal

O BE⁻ e a cetose podem ser prevenidos e/ou tratados com um balanço nutricional adequando para as diferentes necessidades das vacas leiteiras durante a lactação, porém o fornecimento em excesso, principalmente de carboidratos prontamente fermentáveis, é responsável pelo desenvolvimento da acidose ruminal e como consequência, acidemia.

A acidose ruminal aguda caracteriza-se pela condição na qual o pH do rúmen decresce abaixo de 5,0 a 5,2, enquanto que a acidose subaguda é aquela na qual o pH ruminal fica entre 5,2 e 5,6 (Stone, 2004). Os ácidos produzidos no rúmen podem ser absorvidos para a circulação sanguínea ocasionando acidemia. Por definição, acidemia é a redução no teor de álcalis nos fluidos corporais, em relação ao teor de ácidos (Owens *et al.*, 1998). Apesar de ser necessário que o pH sanguíneo decresça de 7,35 para que se confirme o diagnóstico clínico da acidemia, outros sinais, como o pH ruminal, anorexia, consumo errático, diarreia e letargia são sinais claros de acidose e acidemia em ruminantes. As alterações de pH estão associadas ao consumo excessivo de carboidratos rapidamente fermentáveis, caracterizados por padrões de fermentação ácidos, que podem levar a quadros agudos de desidratação e morte (González, 2004).

A qualidade e composição da gordura do leite são influenciadas por vários fatores inter-relacionados, como a quantidade e qualidade da fibra, a relação volumoso:concentrado, o local e a taxa de degradação dos carboidratos não estruturais, principalmente do amido, e características do suplemento gorduroso (Ashes *et al.*, 1997).

A ocorrência de acidose ruminal normalmente implica em decréscimo na produção de leite e também pode ocasionar alterações na composição do produto. Segundo González *et al.* (2004) com a queda do pH ruminal é favorecido o crescimento de bactérias gram-positivas, como *Streptococcus bovis* e *Lactobacillus sp.*, que tendem a manter o meio cada vez mais ácido. Inicialmente ocorre aumento na produção de ácido propiônico, seguido de ácido láctico, com redução de acetato e beta-hidroxibutirato. A mudança na proporção molar entre os substratos finais do metabolismo ruminal causa aumento da absorção diferencial dos ácidos graxos que chegam à glândula mamária por via circulatória, induzindo mudanças no metabolismo animal, em que passa a exigir maior deposição de gordura de reserva, por efeito da insulina, que também tem sua concentração elevada pela presença de maior quantidade de precursores

gliconeogênicos (ácido propiônico). Com a menor disponibilidade de ácido acético ruminal e também de ácidos livres, pela insulina, há redução da disponibilidade de precursores de gordura, que afluem para a glândula mamária, o que pode causar redução no teor de gordura do leite.

Na alimentação de vacas leiteiras, a relação volumoso:concentrado é muito importante para o adequado funcionamento do rúmen, sendo que esta relação deve ser próxima a 50:50. O funcionamento do rúmen ocorre quando há ruminação e consequentemente produção de saliva, o que controla o pH e equilibra a fermentação (tabela 1). O pH adequado à fermentação da fibra é favorecida, proporcionando maior ingestão de matéria seca e, consequentemente, maior produção de leite. Ao mesmo tempo que há maior produção de leite, o consumo adequado de volumoso garante teores normais de gordura no leite (Mühlbach, 2003).

A efetividade da fibra em promover a ruminação é outro aspecto a ser considerado na fermentação ruminal. A fibra estimula a ruminação, causa aumento na produção de saliva e mantém o pH em níveis favoráveis para a fermentação e produção de ácido acético, principal precursor de gordura no leite.

Tabela 1. Efeito da relação volumoso/concentrado sobre a fermentação ruminal.

-----% da MS-----				Mastigação	pH	----- % molar -----		Relação
Volumoso	Concentrado	FDN	FDA	(min/dia)	rúmen	Acético	Propiônico	molar
100	0	65	41	960	7,0 ^a	70	18	3,9
80	20	55	34	940	6,6 ^a	67	20	3,4
60	40	45	27	900	6,2 ^a	64	22	2,9
40	60	34	20	820	5,8	58	28	2,1 ^b
20	80	24	13	660	5,4	48	34	1,4 ^b
0	100	14	6	340	5,0	36	45	0,8 ^b

^a faixa de pH adequada para a fermentação da celulose

^b relação molar que causa queda da % da gordura no leite

Fonte: MÜHLBACH (2003)

Bauman & Griinari (2003), demonstraram que dietas com grandes quantidades de carboidratos prontamente fermentáveis e a diminuição da administração de fibra ou dietas com quantidade adequadas de fibra, porém com pouca efetividade da fibra, possuem pouca habilidade de manter o funcionamento do rúmen, podendo causar depressão na gordura do leite pelo efeito da queda do pH ruminal (figura 3).

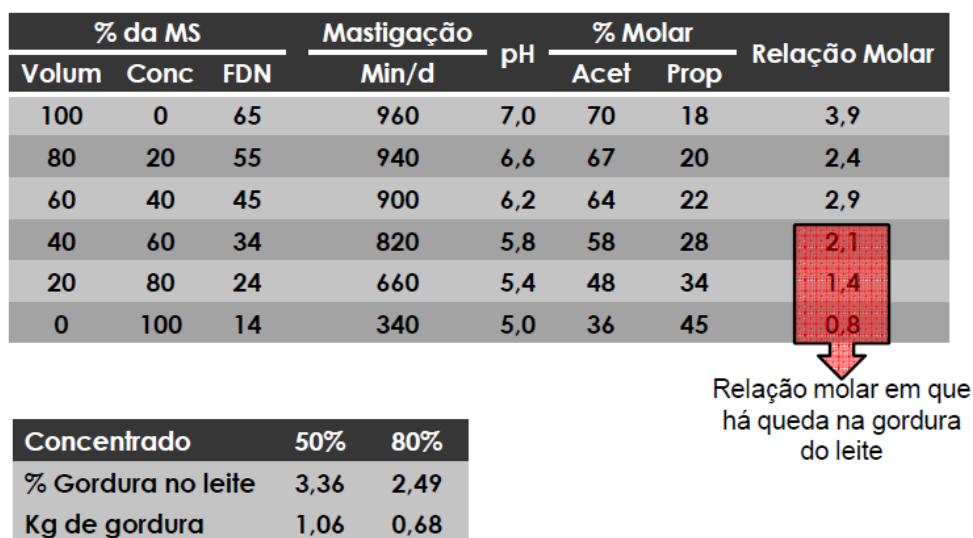


Figura 3. Relação entre dietas com diferentes proporções de volumoso:concentrado, tempo de mastigação e produção de ácido acético e propiônico. Fonte: Bauman e Griinari (2003)

O efeito entre a relação volumoso:concentrado, pH ruminal, produção de ácidos graxos voláteis, produção de leite e % de gordura no leite podem ser visualizadas na figura 4. Conforme aumenta o fornecimento de concentrado em relação ao volumoso observamos um decréscimo no pH ruminal. A fermentação dos carboidratos gera aumento dos AGV totais, com aumento substancial do ácido propiônico e diminuição do ácido acético, fato que explica em parte a diminuição do % de gordura no leite, sendo o ácido acético um dos componentes da síntese do novo pela glândula mamária. Com o aumento do fornecimento de concentrados em níveis de manutenção do pH ruminal acima de 5,5 a produção de leite aumenta, porem quando a fermentação dos carboidratos causa queda do pH ruminal abaixo de 5,5, observamos diminuição da produção de leite, isto pode ser explicado pela acidose ruminal, que por sua vez, compromete a manutenção da microbiota responsável pela fermentação dos alimentos.

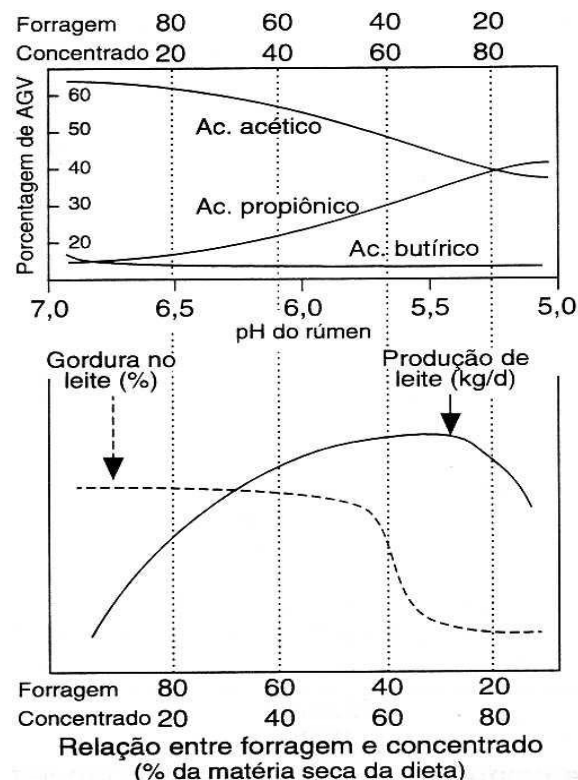


Figura 4. Relação volumoso:concentrado, pH ruminal, produção de ácidos graxos voláteis, produção de leite e % de gordura no leite.

Síndrome da baixa gordura no leite

O fornecimento de determinados tipos de dietas causa grande redução no teor e na secreção da gordura no leite, e esta situação é geralmente referida como síndrome da baixa gordura no leite. Estas dietas apresentam normalmente grande quantidade de concentrados, forragens finamente picadas e/ou lipídios insaturados (Sutton, 1989; Van Soest, 1994). Três principais teorias foram propostas para explicar a síndrome da baixa gordura no leite como consequências das alterações dietéticas relacionadas acima. Embora todas sejam baseadas em alterações do metabolismo ruminal, duas delas relacionam a síndrome da baixa gordura no leite à limitações de substratos lipogênicos para a glândula mamária, enquanto que a outra sugere uma inibição direta da síntese de lipídeos por certos ácidos graxos formados no rúmen. Um destes é o ácido graxo linoléico conjugado (CLA) trans-10 cis-12, cujo efeito sobre a síntese de lipídios pode ser explicada, pelo menos em parte, pela inibição da atividade das enzimas lipogênicas acetil-CoA carboxilase e ácido graxo sintetase (Piperova *et al.*, 2000; Hayaschi *et al.*, 2002).

A primeira teoria sugere que o maior fornecimento de concentrados na dieta, com elevação da proporção concentrado:volumoso, aumenta a produção de ácidos no rúmen, o que promove a queda do pH ruminal. Em pH baixo, a degradação da fibra é comprometida,

promovendo alterações na fermentação ruminal, resultando em inadequada produção de acetato e butirato, limitando sua utilização para a síntese da gordura do leite.

Tabela 2. Ácidos graxos voláteis no rúmen e depressão da gordura do leite em vacas alimentadas com dietas de baixa fibra, composta por alta quantidade de grãos e pouca forragem.

Variável	Dieta	
	Controle	Baixa fibra
^a		
Leite		
produção, kg/dia	19,1	20,9
conteúdo de gordura, %	3,6	1,7*
produção de gordura, g/dia	683	363*
Ácidos graxos voláteis no rúmen, porcentagem molar		
acetato	67	46*
propionato	21	46*
butirato	11	9
proporção acetato: propionato	3,2	1,0*
Produção no rúmen, moles/dia		
acetato ^b	29,4	28,1
propionato ^c	13,3	31,0*
Taxa de entrada no corpo todo, mg/min kg ^{.75}		
β-hidroxibutirato ^d	3,40	4,43

*Diferença significativa

Fonte: Bauman e Griinari (2003).

Davis (1967) observou que a produção de acetato não foi afetada significativamente, no entanto, a relação molar de acetato:propionato do fluido ruminal apresentou forte queda. Essa queda na relação acetato:propionato foi proporcionada principalmente pela elevação na produção de propionato e não pela queda na produção de acetato (Tabela 2) (Bauman *et al.*, 1971).

Apesar das evidências de que em dietas com baixa fibra a produção de acetato e butirato não são afetadas, um déficit desses AGV é frequentemente considerada como colaborador na redução da gordura do leite (Doreau *et al.*, 1999 citado por Bauman & Griinari, 2003). Isto pode ser atribuído ao fato de que dietas com baixa fibra normalmente reduzem o pH e isto afetará a taxa relativa de absorção individual de ácidos graxos voláteis (Bauman & Griinari, 2003).

A segunda teoria ou teoria glicogênica-insulínica é baseada na competição por nutrientes, entre a glândula mamária e outros tecidos. Dietas com baixa fibra resultam em aumento da produção de propionato no rúmen e elevação da taxa de gliconeogênese hepática. Além disto, estas dietas resultam em melhor balanço energético devido à maior ingestão de energia e redução na secreção de gordura do leite. Como consequência dessa combinação de fatores, a concentração de insulina no sangue está aumentada, desviando nutrientes da glândula mamária. Isto ocorre porque a insulina aumenta a utilização de acetato, β-hidroxibutirato e AGNE no tecido adiposo, ou seja, há um aumento da liponeogênese. Além disso, a insulina

também reduz a mobilização dos AGNE das reservas corporais (Corrêa et al., 2010). A teoria glicogênica tem sido avaliada por meio de infusões exógenas de propionato e glicose. Os resultados encontrados sobre redução na gordura do leite têm se mostrado altamente variáveis, entre 0 e 14% (Bauman & Griinari, 2003).

A terceira teoria é a que, na última década, tem recebido maior suporte dos pesquisadores. Esta teoria sugere que certas dietas alteram a biohidrogenação dos ácidos graxos insaturados no rúmen, produzindo ácidos graxos intermediários (figura 5) principalmente ácidos graxos 18:1 trans. Estes AGNE teriam uma potente ação inibidora da síntese de gordura no leite (Bauman e Griinari, 2003).

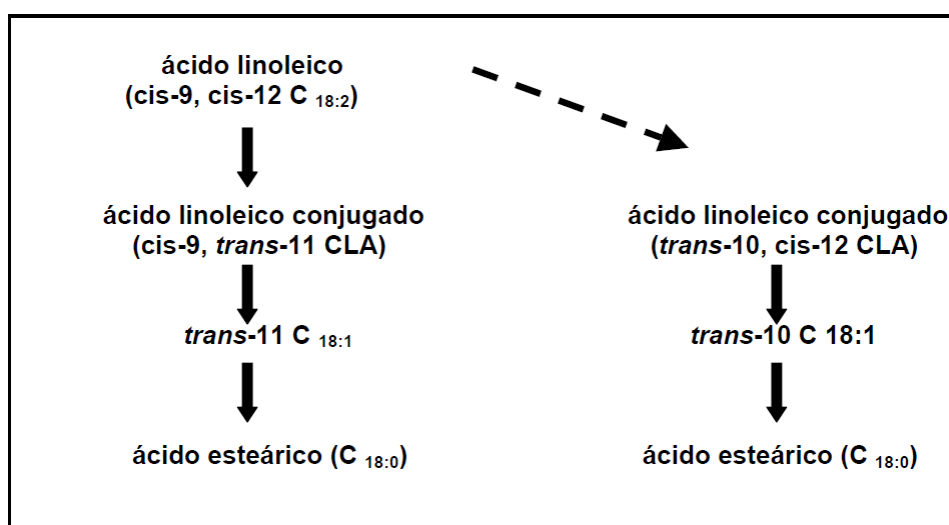


Figura 5. Rotas de biohidrogenação do ácido linoléico no rúmen. Fonte: Bauman & Griinari (2003).

As alterações fermentativas do rúmen, que geralmente resultam em mudanças na proporção molar de ácidos graxos voláteis (AGV), também podem proporcionar alterações na biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) insaturados. A queda na biohidrogenação ruminal promove o acúmulo de intermediários desta rota metabólica, principalmente ácidos graxos 18:1 trans. Embora o aumento no conteúdo do trans-10 18:1 tenha sido observado em todas as dietas que causam diminuição na gordura do leite, sua função como inibidor da síntese de gordura não tem sido diretamente examinada devido à deficiência de material puro. Por outro lado, a função do CLA trans-10, cis-12 como um potente inibidor da síntese de gordura no leite em vacas, tem sido estabelecida com clareza. Os isômeros CLA trans-10, cis-12 também são incorporados na gordura do leite. Investigações envolvendo infusões abomasais de isômeros puros (figura 6) demonstraram uma relação curvilínea entre o conteúdo de CLA trans-10, cis-12 e a redução na secreção de gordura no leite (Bauman & Griinari, 2003).

O CLA trans-10, cis-12 diminui a capacidade lipogênica da glândula mamária (taxas de incorporação de acetato em ácidos graxos) e a expressão de genes de enzimas relacionadas ao transporte de ácidos graxos circulantes, diminui a síntese do novo de ácidos graxos, a dessaturação de ácidos graxos e a formação de triglicérides. Dessa forma, o mecanismo que provavelmente o CLA trans-10 cis-12 diminui a produção de gordura do leite envolve a redução na expressão do RNAm de enzimas chaves associadas à síntese de gordura do leite (Baumgard *et al.*, 2002).

A presença de ácidos graxos do tipo trans no leite oferece efeitos positivos sobre a saúde humana, além dos benefícios já conhecidos da ingestão do leite, a divulgação da presença destes ácidos pode colaborar para o aumento do consumo de lácteos.

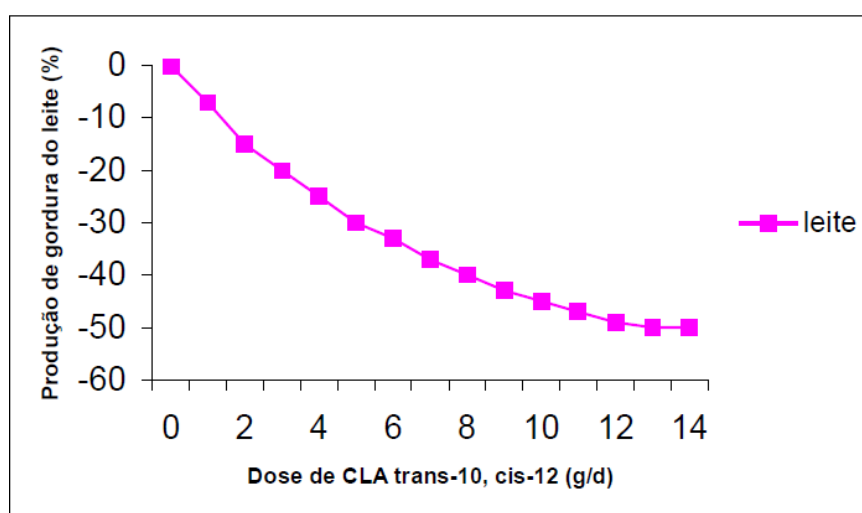


Figura 6. Relação entre a infusão abomasal de trans-10 cis-12 CLA e decréscimo da produção da gordura do leite. Fonte: Baumam & Griinari (2003).

Excesso de proteína na dieta

Entre os nutrientes alimentares de uma vaca leiteira, a proteína participa de várias funções bioquímicas, sua escassez assim como seu excesso pode resultar no comprometimento do desenvolvimento animal, reprodutivo e produtivo, comprometendo também a qualidade do leite. O leite pode servir como importante ferramenta para monitoramento da nutrição e do metabolismo das vacas (González, 2001), para tanto precisamos entender como ocorrem os processos de fermentação ruminal das proteínas e sua absorção nos intestinos.

No rúmen as bactérias proteolíticas representam apenas 12 a 38% do total das bactérias ruminais e normalmente, apenas cerca da metade da proteína da dieta é digerida no rúmen. Do total de proteínas fornecidas na dieta podemos classificá-las como proteínas degradáveis no rúmen (PDR) e proteínas não degradáveis no rúmen (PNDR). Os microrganismos ruminais

produzem proteases que hidrolisam as PDR produzindo peptídeos e aminoácidos que podem ser utilizados pelos próprios microrganismos. Os produtos finais da hidrólise proteica são aminoácidos, NH_3 e vários outros ácidos graxos voláteis. A NH_3 origina-se não apenas da desaminação de aminoácidos, mas também da conversão de compostos nitrogenados não-protéicos (NNP) como os nitritos, nitratos e a uréia. A uréia é um importante substrato para a síntese de proteína microbiana, porém está sujeita a quantidades adequadas de α -cetoglutarato (para aaminação do glutamato) e de ácidos graxos voláteis (que fornecem o esqueleto carbônico) para sintetizar aminoácidos e proteína microbiana. Na prática, os regimes alimentares devem, por um lado, prover proteína verdadeira e NNP juntamente com carboidratos prontamente fermentáveis para garantir que os microrganismos ruminais tenham aminoácidos, amônia e esqueletos de carbono para satisfazer os requerimentos da síntese proteica microbiana mantendo o número da população e garantindo que o excesso de proteína degradada em AGV e NH_3 não ocorra. A superalimentação com proteína é um erro nutricional comum entre os produtores de leite que acarreta aumento na produção de NH_3 ocasionando dispêndio energético ao animal, pois a NH_3 , ao ser convertida em uréia no fígado, demanda fontes de ATP e é também um risco potencial de intoxicação. Na fermentação das proteínas da dieta, há uma reciclagem contínua de proteínas a partir dos microrganismos que morrem. Nenhum dos aminoácidos produzidos nos pré-estômagos são prontamente disponíveis para o ruminante. Estas proteínas e aminoácidos são absorvidos nos intestinos na ocasião da morte da microbiota ruminal e passagem aos intestinos, que confere o suprimento da maior quantidade de proteína e aminoácidos essenciais aos ruminantes. A PNDR possui o mesmo metabolismo que ocorre nos monogástricos, sua hidrólise ocorre principalmente pela ação de enzimas pancreáticas e a absorção dos aminoácidos ocorre nos intestinos (Swenson et al., 1993).

O excesso de proteínas ou fontes de NNP na dieta podem ser mensuradas como nitrogênio uréico no leite (NUL). O NUL está negativamente associado à eficiência na utilização do nitrogênio da dieta para síntese protéica. Como a uréia se difunde livremente entre os fluidos do organismo, sua concentração na glândula mamária reflete a concentração no sangue (Nousiainen *et al.*, 2004). Qualquer fator que interfira na eficiência da utilização da amônia presente no rúmen pelos microrganismos ruminais irá resultar em aumento da quantidade de uréia no sangue. A baixa eficiência é parcialmente devido à perda de nitrogênio amoniacal no rúmen. Estima-se que entre 40 a 80% do nitrogênio bacteriano tem origem na amônia ruminal (Hristov & Broderick, 1996), e que a concentração ruminal de amônia é inversamente relacionada à disponibilidade de carboidratos.

Altos teores de proteína na dieta aumentam o custo alimentar, diminui a eficiência de utilização do nitrogênio, resultando em grandes perdas de amônia para o ar e contaminação dos lençóis freáticos por nitrato, menores rendimentos industrial do leite e ainda, efeitos negativos sobre a reprodução. Butler (2004) cita redução nas taxas de prenhes de até 20% quando as

concentrações de NUL atingiram 19 mg/dL e que trabalhos mais recentes tem estabelecido 15 mg/dL como a concentração de risco para problemas reprodutivos (falhas de concepção) no rebanho. Nousiainen *et al.* (2004) concluíram que a PB da dieta é o fator nutricional mais importante que influencia o NUL, podendo ser utilizado como diagnóstico da nutrição protéica da vaca de leite e para prever a excreção urinária de nitrogênio urinário (tabela 3). Quantidades aceitáveis de NUL sugerem maior eficiência na utilização da proteína da dieta e da amônia ruminal.

Tabela 3. Interpretação dos valores de NUL para rebanhos holandeses em vacas em início de lactação.

Proteína do leite%	NUL Baixo (<12)	NUL ótimo (12-18)	NUL alto (>18)
Menor que 3,0	Deficiência de Proteína Def. de solúvel e degradável	Deficiência de Proteína Deficiência de carboidrato ruminal Deficiência de AAs* essenciais	Excesso de proteína Excesso de proteína solúvel ou degradável Def. de carboidratos Desbalanço de AA
Maior que 3,0	Suprimento adequado de AA Def. proteína solúvel e degradável Excesso de carboidrato ruminal	Balanço adequado de AA Balanço adequado de carboidratos ruminais	Excesso de proteína degradável ou solúvel Def. de carboidratos

* AA = aminoácido

Fonte: Fonseca & Santos (2000).

Instabilidade da caseína em leite sem acidez adquirida

O leite que reage positivamente a prova do álcool, sem ter acidez elevada e nem ser proveniente de vacas com mastite, é um problema prático que acomete com frequência rebanhos leiteiros no RS.

A caseína é uma fosfoproteína com atividade anfipática por possuir regiões hidrofílicas e hidrofóbicas, sendo os filamentos hidrofóbicos da κ -caseína na superfície da micela os responsáveis por sua estabilidade. Hidrólise enzimática da κ -caseína, temperatura, pH, excesso de Ca^{++} e adição de etanol estão entre os principais fatores que levam à instabilidade das micelas (Oliveira & Timm 2006).

A estabilidade do leite ao etanol tem sido utilizada em alguns países como método rápido e barato para determinar a acidez adquirida do leite. A concentração de 70 a 72% (v/v) de álcool causa desestabilização da caseína, em leite comprometido pela acidez, devido ao metabolismo microbológico, decorrente da contaminação bacteriana. O leite com resultado

positivo no teste é considerado com baixa resistência térmica, portanto coagula nas placas de pasteurização causando um problema de ordem industrial (Timm *et al.*, 2002).

A proteína do leite é constituída por duas frações. A primeira corresponde a aproximadamente 80% da proteína do leite bovino, e é formada pela caseína. A segunda compreende as proteínas do soro do leite. As micelas de caseína são agregados relativamente grandes, possuindo aproximadamente 7% de fosfato de cálcio e pequenas quantidades de citratos que conferem estabilidade a micela. A principal força de formação das micelas em solução aquosa é o efeito hidrofóbico, assim, todos os fatores que promovem interações hidrofóbicas, como o aumento da temperatura e adição de alguns sais, facilitam a organização das caseínas em micelas (Smyth *et al.*, 2004).

O leite bovino possui quatro tipos de caseína, α_{s-1} , α_{s-2} , β e κ -caseína, na proporção de 4:1:4:1. A α_{s-1} caseína está formada por duas regiões hidrofóbicas separadas por uma zona polar. A α_{s-2} caseína possui uma estrutura bipolar com cargas negativas concentradas perto da extremidade N-terminal e positivas na porção C-terminal. A β -caseína é uma proteína anfipática com uma região hidrofílica na porção N-terminal e hidrofóbica na C-terminal. A κ -caseína é uma glicoproteína e possui apenas um grupo fosfo-serina, sendo, portanto, estável na presença de íons cálcio e assumindo importante papel na estabilidade da micela. A estabilidade da micela depende da presença de κ -caseína na sua superfície, a qual se constitui na fração hidrofílica da caseína, que reage com a água e impede a agregação das micelas (Oliveira & Timm 2006).

As pesquisas tem demonstrado que a prova do álcool não é o melhor método para julgar a estabilidade da caseína. Vários autores mostraram que ocorre precipitação da caseína quando em contato com o álcool a 70 ou 72% (v/v) mesmo em leites não ácidos. Trabalhos conduzidos em Utrecht citados por Oliveira & Timm (2006) descrevem que a instabilidade da proteína ao calor e ao álcool está relacionada com a concentração de íons cálcio no leite. Ponce (1999), em Cuba, relatou que o leite de vacas da raça Holandesa de alto potencial de produção apresentavam positividade na prova do álcool mesmo o leite não estando ácido. A explicação pela instabilidade da caseína, neste caso, seria um conjunto de alteração nas propriedades físico-químicas do leite, caracterizadas por diminuição dos sólidos totais e da capacidade tamponante, ocasionadas pelo desequilíbrio em energia e proteína da dieta associado às características da ração, com implicações no ambiente ruminal e comprometimento do metabolismo geral (acidose).

Oliveira & Timm (2006) encontraram alterações na composição do leite com caseína instável produzido na região sul do Rio Grande do Sul. Os teores de gordura foram maiores e a lactose apresentou teores menores quando comparado ao leite com caseína estável. As causas da instabilidade encontradas por Oliveira & Timm (2006) corroboram com Ponce (1999), alterações na dieta que alteram o metabolismo ruminal, envolvendo nutrientes necessários ao equilíbrio iônico do leite, estão relacionados com a instabilidade da caseína.

Caseína instável em leite sem acidez adquirida continua sendo problema para produtores e indústria. As causas são multifatoriais e até o momento sabe-se que transtornos no metabolismo ruminal e sistêmico, ocasionados por desequilíbrios nutricionais, acarretam aumento dos níveis de íons cálcio no leite, que possivelmente, está associado à desestabilização da caseína. O leite com instabilidade da caseína apresenta também alterações na sua composição bioquímica.

Referências bibliográficas

- ASHES, J. R.; GULATI, S. K.; SCOTT, T. W. Potential to alter milk fat through nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 9, p. 2204-2212, 1997.
- BAUMAN, D. E.; GRIINARI, J. K. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annual Review of Nutrition**, v. 23, p. 203-227, 2003.
- BAUMAN, D. E.; DAVIS, C. L. Propionate production in rumen of cows fed either control or low fiber, high grain diets. **Journal of Dairy Science**, v. 54, p. 1282-1287, 1971.
- BAUMGARD, L. H. et al. *Trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid decreases lipogenic rates and expression of genes involved in milk lipid synthesis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 2155-2163, 2002.
- BOBE, G.; YOUNG, J. W.; BEITZ, D. C. Pathology, etiology, prevention and treatment of fatty liver in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 10, p. 3105-3124, 2004.
- BUTLER, W. R. (2004) Relação entre a concentração de proteína da dieta, ambiente uterino e concepção em vacas leiteiras. In: VIII Curso Novos Enfoques NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS. Uberlândia, MG, 2004. Anais do... 2004, p. 101-108.
- CAMPOS, R.; GONZÁLEZ, F.H.D.; COLDEBELLA, A.; LACERDA, L. Indicadores do metabolismo energético no pós-parto de vacas leiteiras de alta produção e sua relação com a composição do leite. **Ciência Animal Brasileira**, v.8, n.2, p. 241-249, 2007.
- CORRÊA, M. N.; GONZÁLEZ, F.H.D.; DA SILVA, S. C. Transtornos metabólicos nos animais domésticos. Pelotas (Brasil): **Editora Universitária PREC-UFPEL**, 2010. Cap. 11.2, p. 409-419.
- DAVIES, D. T., WHITE, J. C. D. The relation between the chemical composition of milk and the stability of the caseinate complex: II-Coagulation by ethanol. **Journal of Dairy Research**, v. 25, p. 256-267, 1958.
- DAVIS, C. L. Acetate production in rumen of cows fed either control or low fiber, high grain diets. **Journal of Dairy Science**, v. 50, p. 1621-1625, 1967.
- DOUREAU, M., et al. Manipulation of milk fat in dairy cows. In: GARNSWORTHY, P. C.; WISEMAN, J. Recent advances in animal nutrition. Nottingham, UK: Nottingham Univ. Press, 1999, p. 81-109.
- FREDEEN, A. H. Considerations on the nutritional modification of milk composition. **Animal Feed Science and Technology**, v. 59, p. 185-197, 1996.

- FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. Conceitos básicos sobre composição de leite e métodos utilizados. In: 1º CURSO ON LINE SOBRE QUALIDADE DO LEITE. Instituto Fernando Costa, Milkpoint. 2000.
- GONZÁLEZ, F.H.D.; MUIÑO, R.; PEREIR, V.; CAMPOS, R.; JOSÉ LUISCASTELLOTE, J.L.B. Indicadores sanguíneos de lipomobilização e função hepática no início da lactação em vacas leiteiras de alta produção. **Ciência Animal Brasileira** – Suplemento 1, 2009 – Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria.
- GONZÁLEZ, F. H. D. (2001) Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação. In: USO DO LEITE PARA MONITORAR A NUTRIÇÃO E O METABOLISMO DE VACAS LEITEIRAS. Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- GONZÁLEZ, F. H. D. Pode o leite refletir o metabolismo da vaca? In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE. Passo Fundo, RS, 2004. Anais-CR/ROM.
- HAYASHI, A.A.; MEDEIROS, S.R.; LANNA, D.P.D. Effect of conjugated linolenic acid (CLA) on milk fatty acid profiles and activities of lipogenic enzymes in the mammary gland, liver and adipose tissue of lactating rats. **Journal of Dairy Science**, v.85, Suppl.1, p.10, 2002.
- HRISTOV, A. ROPP, J. K. Effect of dietary carbohydrate composition and availability on utilization of ruminal ammonia nitrogen for protein synthesis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 2416-2427, 2003.
- MÜHLBACH, P. R. F. Nutrição da vaca em lactação e a qualidade do leite. In: SIMPÓSIO DE BOVINOCULTURA DE LEITE, 2003, Chapecó. Sociedade Catarinense de Méd. Vet. – Núcleo Oeste. Disponível em: <<http://www.nucleovet.com.br/simposio.htm>>
- NIELSEN, N.I.; INGVARTSEN, K.L. Propyleneglycol for dairy cows. A review of the metabolism of propylene glycol and its effects on physiological parameters, feed intake, milk production and risk of ketosis. **Animal Feed Science and Technology**, v. 115, p. 191-213, 2004.
- NOUSIAINEN, J. et al. Evaluation of milk urea as a diagnostic of protein feeding. **Journal of Dairy Science**. v.87, p. 386-394, 2004.
- OLIVEIRA, D. S., TIMM, C. D. Composição do leite com instabilidade da caseína. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 26, n. 2, p. 259-263, 2006.
- OLIVEIRA, D. S., TIMM, C. D. Instabilidade da caseína em leite sem acidez adquirida. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 102, p. 17-22, 2007.
- OWEN, F. N.; SECRIST, D. S.; HILL, W. J.; GILL, D. R. Acidosis in cattle: a review. **Journal of Dairy Science**, v.76, p. 275-286, 1998.
- PALMQUIST, D. L. et al. Adsa foundation symposium: milk fat synthesis and modification. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 1753-1771, 1993.
- PIPEROVA, L.S.; TETER, B.B.; BRUCKERTAL, I., et al. Mammary lipogenic enzyme activity, trans fatty acids and conjugated linolenic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fat –depressing diet. **Journal of Nutrition**, v.130, p.2568-2574, 2000.

- PONCE, P. Caracterização da síndrome do leite anormal: um enfoque das suas possíveis causas e correções. In: 4º SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE LEITE. Caxambu, 1999. Anais...61-76.
- SMYTH, E., CLEGG, R. A., HOLT, C. A biological perspective on the structure and function of caseins and casein micelles. **Journal of Dairy Technology**, v. 57, p. 121-126, 2004.
- STONE, W. C. Nutritional approaches to minimize sub-acute ruminal acidosis and laminitis in dairy cattle. **Journal of dairy Science**, v.87 (E. Suppl.): p. 13-26, 2004.
- SWENSON, M.J., REECE, W. O. DUKES. Fisiologia dos animais domésticos. 11º. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 856p.
- SUTTON, J.D. Altering milk composition by feeding. **Journal of Dairy Science**, v.72, p. 2801-2814, 1989.
- TIMM, C. D., OLIVEIRA, D. S., ARRIADA, E. O., MARTINS, C. M. ROOS, T. B. GONZALEZ, H. L. Estabilidade proteica do leite produzido no município de Santa Vitória do Palmar. In: XXIX CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA. Anais... Gramado, 129.
- VAN SOEST, P.J. Nutrition ecology of the ruminant. 2. Ed. Ithaca: CORNELL UNIVERSITY, 1994. 476p.