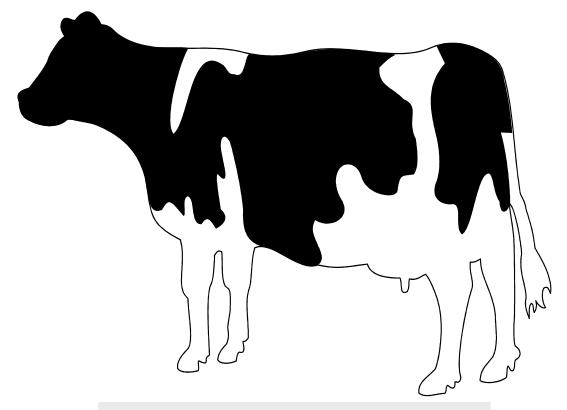
# USO DO LEITE PARA MONITORAR A NUTRIÇÃO E O METABOLISMO DE VACAS LEITEIRAS



# **EDITORES**

Félix H. D. González João Walter Dürr Roberto S. Fontaneli

Porto Alegre - RS, Brasil 2001

#### **EDITORES**

FÉLIX H.D. GONZÁLEZ, Prof., M.V., M.Sc., Dr.Sc. Laboratório de Bioquímica Clínica Animal Faculdade de Veterinária – Universidade Federal do Rio Grande do Sul Av. Bento Gonçalves 9090. Porto Alegre - RS 91.540-000 BRASIL felixgon@orion.ufrgs.br

JOÃO WALTER DÜRR, Prof., Eng.Agr., M.Sc., Ph.D. Faculdade de Agronomia e Veterinária - Universidade de Passo Fundo Campus Universitário – Caixa Postal 611 - Bairro São José – Passo Fundo – RS 99001-970 BRASIL durr@upf.tche.br

ROBERTO .S. FONTANELI, Eng.Agr., M.Sc. Centro de Pesquisa em Alimentação - Universidade de Passo Fundo *roberto@upf.tche.br* 

#### **AUTORES CONTRIBUINTES**

JOSÉ ROBERTO PERES, Eng.Agr., M.Sc. QGN – Carbonor. São Paulo (Brasil) *jrperes@uol.com.br* 

LUIS BARROS, M.V., Ms.V., Ph.D.
Departamento de Ruminantes
Faculdade de Veterinária, Universidade da República
Lasplaces 1550, CP 11600, Montevidéu, Uruguai
luisb@adinet.com.uy

#### PASTOR PONCE CEBALLO

Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) San José de las Lajas, La Habana, Cuba - Tel. 53-64-63145 pastor@censa.edu.cu

#### CIP – CATALOGAÇÃO INTERNACIONAL DA PUBLICAÇÃO

Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras / Editado por Félix H. D. González ...

[et al.]. - Porto Alegre, 2001.

72 p.; il.

 Patologia clínica: ruminantes 2. Doenças metabólicas em ruminantes.
 Nutrição de bovinos leiteiros I. González, Félix H. D. II. Dürr, João Walter. III. Fontaneli, Roberto. IV. Título.

> CDD 619.6026 CDU 619:636.2

Catalogação na publicação: Biblioteca Setorial da Faculdade de Medicina Veterinária da UFRGS UFRGS

Copyright 2001 by Félix H.D. González, João Walter Dürr & Roberto Fontaneli.

Todos os direitos reservados. Não é permitida a reprodução total ou parcial desta publicação sem a autorização escrita e prévia dos editores.

## **SUMÁRIO**

Prefácio

4

Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação *Félix H. D. González* 5

Determinação laboratorial dos componentes do leite *João Walter Dürr*23

O leite como ferramenta do monitoramento nutricional José Roberto Peres 30

Transtornos metabólicos que afetam a qualidade do leite *Luis Barros*46

Propriedades físico-químicas do leite e sua associação com transtornos metabólicos e alterações na glândula mamária *Pastor Ponce Ceballo e Robier Hernández*61

Programa Integral para Melhorar a Produção e a Qualidade do Leite em Cuba Pastor Ponce Ceballo 73

## **PREFÁCIO**

A presente publicação reúne as palestras proferidas durante o 5º Seminário Internacional que o Laboratório de Bioquímica Clínica Animal da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul organiza pelo quinto ano consecutivo. Nesta oportunidade, o evento contou com a participação organizativa do Centro de Pesquisas em Alimentação (CEPA) da Faculdade de Agronomia e Veterinária da Universidade de Passo Fundo.

O conhecimento do leite como fluido biológico de importância, tanto para a saúde animal como na indústria de laticínios, adquire cada dia maior necessidade para os profissionais dedicados à produção e à clínica de bovinos leiteiros. O trabalho que se vislumbra tanto para o veterinário de campo, quanto para o produtor e, especialmente para o pesquisador-docente nesta área, é o da multidisciplinariedade, envolvendo conceitos de nutrição, bioquímica clínica, medicina preventiva, produção e manejo alimentar.

Este texto reúne matérias de palestrantes convidados de Cuba, Uruguai e Brasil engajados no estudo do leite não só como produto de consumo e uso industrial, mas como indicador da saúde metabólico-nutricional da vaca leiteira. Cabe destacar a participação do professor Pastor Ponce Ceballo, pesquisador do Centro Nacional de Sanidade Agropecuária (CENSA), cuja equipe vem estudando aspectos relacionados com a Síndrome do Leite Anormal durante mais de 20 anos. O professor Luis Barros, da Universidade da República, do Uruguai, é também um reconhecido pesquisador na área de doenças metabólicas em ruminantes. Complementa os temas o nutricionista paulista José Roberto Peres, quem brilhantemente incorpora aspectos práticos da interpretação das análises do leite no manejo alimentar dos rebanhos leiteiros.

Nossos agradecimentos às empresas e instituições que se vincularam e apoiaram este evento, em especial a Elegê Alimentos, a QGN-Carbonor, a Serrana, a Santista Alimentos, A Genética Superior, bem como a Universidade de Passo Fundo e a Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Os editores Porto Alegre, dezembro de 2001.

# COMPOSIÇÃO BIOQUÍMICA DO LEITE E HORMÔNIOS DA LACTAÇÃO\*

Félix H. D. González

Laboratório de Bioquímica Clínica Animal Faculdade de Veterinária Universidade Federal do Rio Grande do Sul Porto Alegre – RS felixgon@orion.ufrgs.br

# INTRODUÇÃO

O leite bovino é um fluido composto por uma série de nutrientes sintetizados na glândula mamária, a partir de precursores derivados da alimentação e do metabolismo. Os componentes incluem água, glicídeos (basicamente lactose), gordura, proteína (principalmente caseína e albumina), minerais e vitaminas. O leite é secretado como uma mistura desses componentes e suas propriedades são mais complexas que a soma dos seus componentes individuais.

A proporção de cada componente no leite está influenciado, em diferentes graus, pela nutrição da vaca. Assim, a alimentação responde por aproximadamente 50% das variações de gordura e proteínas do leite, porém praticamente não afeta o conteúdo de lactose (Fredeen, 1996).

O conhecimento da composição do leite e sus variações é tão importante para o veterinário, como meio para monitorar efeitos da alimentação ou para a detecção de transtornos metabólicos, como para o produtor, em termos de modificações que podem afetar o processamento industrial do leite.

# PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE

O leite é uma emulsão de glóbulos de gordura e uma suspensão de micelas de caseína (caseína, cálcio, fósforo), todas suspendidas em uma fase aquosa que contém solubilizadas moléculas de lactose, proteínas do soro do leite e alguns minerais. Os leucócitos no leite são parte da fase suspendida.

Os glóbulos de gordura do leite de vaca variam em tamanho de 0,1 a 10 micrômetros. As micelas de caseína têm um tamanho entre 10 a 300 nanômetros e têm uma densidade de 1,11 g/ml.

Outras características físico-químicas do leite de vaca são as seguintes:

pH normal = 6.6 - 6.9

Acidez= 0.13 - 0.17% de ácido láctico  $(10 - 17^{\circ}D)$ 

Densidade= 1,023 – 1,040 g/ml (a adulteração por aguado diminui a densidade)

Pressão osmótica = 700 kPa

Ponto de congelamento (crioscópico)= -0,531°C (a adulteração por aguado diminui o ponto crioscópico)

Calor específico= 100°C (nível do mar)

Tensão superficial= 55,3 mN/m

Viscosidade= 1,631 mPa s (a 20°C)

Força iônica = 0,08 molar

Atividade da água = 0,993

<sup>\*</sup> GONZÁLEZ FHD (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.

Condutividade elétrica = 4,61 – 4,92 mS/cm

Cor= branca (devida aos glóbulos de gordura e às micelas de caseína e fosfato de cálcio)

A pasteurização do leite é feito para eliminar os contaminantes bacterianos sem alterar substancialmente as características do leite. O aquecimento a 74°C por 15 segundos (pasteurização baixa) resulta na morte da maioria dos microorganismos e inativa algumas enzimas, mas não altera o leite. O aquecimento a 90°C por 15 segundos (pasteurização alta) resulta na morte de todos os microorganismos vegetativos, inativando a maioria das enzimas, mas também torna insolúveis algumas proteínas do soro. O aquecimento a 118°C por 20 segundos esteriliza o leite, mata todos os microorganismos incluídas as esporas, inativa todas as enzimas, mas também causa mudanças no leite, tais como reações de escurecimento (*browning*) envolvendo proteínas e lactose (reação de Maillard). A pasteurização do leite de ultra-alta temperatura (UHT) a 145°C por poucos segundos esteriliza o leite mas minimiza as mudanças químicas. O leite UHT apropriadamente armazenada tem uma longa vida de prateleira (*shelf life*), mesmo a temperatura ambiental.

#### VARIABILIDADE DOS COMPONENTES DO LEITE

A composição do leite varia em função de muitos fatores que incluem: espécie de mamífero, raça, estágio da lactação e variação durante a ordenha, entre outros.

## Variação por espécie animal.

A quantidade de gordura pode variar desde 1% até mais de 50%. Os mamíferos aquáticos têm tipicamente altas quantidades de gordura (Tabela 1).

O percentual de lactose pode variar desde traços até menos de 7%. Algumas espécies têm muito pouca lactose no leite, como o urso e o canguru. Estas espécies têm outras substâncias para manter o equilíbrio osmótico do leite com o plasma sangüíneo, geralmente outros açúcares como trissacarídeos, no caso do canguru.

O conteúdo de proteína varia consideravelmente entre as espécies, porém em menor grau que a gordura. A proporção de proteína pode variar de 1% até 14%. Geralmente, o percentual de proteína do leite está positivamente correlacionado com o percentual de gordura (Tabela 1).

## Variação por raça.

A composição do leite varia também dentro da espécie. A vaca leiteira é um bom exemplo. As diferenças são especialmente em gordura e em proteína, sendo esses componentes as bases de pagamento diferenciado para os produtores de leite. A gordura nas raças Jersey e Guernsey é maior que na Holandesa (Tabela 1). A lactose, por outro lado, se mantém praticamente constante entre as diferentes raças. A composição do leite também pode variar entre indivíduos da mesma raça. Por exemplo, a gordura do leite em vacas Jersey, que tem médias de 5 a 5,5%, pode variar de menos de 4% a mais de 7%.

# Variação durante a ordenha.

Mesmo durante a ordenha, a composição do leite pode variar. A gordura do leite de vaca é um bom exemplo, sendo menor no leite do início da ordenha, aumentando gradualmente em percentagem quando o leite é retirado da glândula. O último leite da glândula é o mais alto em conteúdo de gordura. A contagem de células somáticas (CCS) que corresponde à concentração de leucócitos no leite, segue um padrão similar, sendo menor a contagem no leite inicial (exceto nas primeiras gotas de leite) e maior no último leite retirado da glândula. Estes dados são importantes quando se coletam amostras de leite para testes, de forma que a melhor amostra está representada pelo leite inteiro coletado durante toda a ordenha.

## Variação no estágio da lactação.

A composição do leite varia consideravelmente durante a lactação, sendo que as maiores mudanças ocorrem logo após o início da lactação. A primeira secreção coletada da glândula mamária é chamada de colostro. A composição da secreção gradualmente muda para aquela do leite maturo.

Tabela 1. Composição química do leite em várias espécies.\*

Tabeia 1. Composição química do feite em varias especies."										
Espécie/raça	Gordura (%)	Proteína (%)	Relação Proteína/ Gordura	Lactose (%)	Cinzas (%)	Sólidos totais (%)				
Vaca Ayrshire	4,1	3,6	0,9	4,7	0,7	13,1				
Vaca Pardo Suíço	4,0	3,6	0,9	5,0	0,7	13,3				
Vaca Guernsey	5,0	3,8	0,8	4,9	0,7	14,4				
Vaca Holstein	3,5	3,1	0,9	4,9	0,7	12,2				
Vaca Jersey	5,5	3,9	0,7	4,9	0,7	15,0				
Vaca Zebu	4,9	3,9	0,8	5,1	0,8	14,7				
Cabra	3,5	3,1	0,9	4,6	0,8	12,0				
Ovelha	5,3	5,5	1,0	4,6	0,9	16,3				
Suíno	8,2	5,8	0,7	4,8	0,6	19,9				
Cavalo	1,6	2,7	1,7	6,1	0,5	11,0				
Asno	1,2	1,7	1,4	6,9	0,4	10,2				
Coelho	12,2	10,4	0,8	1,8	2,0	26,4				
Cão	8,3	9,5	1,1	3,7	1,2	20,7				
Gato	10,9	11,1	1,0	3,4		25,4				
Rato	14,8	11,3	0,8	2,9	1,5	31,7				
Búfalo	10,4	5,9	0,6	4,3	0,8	21,5				
Camelo	4,9	3,7	0,8	5,1	0,7	14,4				
Veado	19,7	10,4	0,5	2,6	1,4	34,1				
Elefante	15,1	4,9	0,3	3,4	0,7	26,9				
Canguru	2,1	6,2	3,0	traços	1,2	9,5				
Urso polar	31,0	10,2	0,3	0,5	1,2	42,9				
Foca	53,2	11,2	0,2	2,6	0,7	67,7				
Baleia	34,8	13,6	0,4	1,8	1,6	51,2				
Golfinho	14,1	10,4	0,7	5,9		30,4				
Macaco	3,9	2,1	0,6	5,9	2,6	14,5				
Humano	4,5	1,1	0,2	6,8	0,2	12,6				

<sup>\*</sup>Adaptado de Jensen, R.G. Handbook of Milk Composition, Academic Press (1995).

#### Colostro.

O leite é chamado de colostro nos primeiros 5 a 7 dias após o parto. O colostro da primeira ordenha pós-parto é 4 a 5 vezes mais rico em proteína, minerais e vitaminas do que o leite normal (Tabela 2). Grande parte da proteína a mais que o colostro contém é composta de imunoglobulinas, que têm função protetora para os bezerros. À medida que são feitas as ordenhas ou que o bezerro mama, a composição do colostro vai se assemelhando à do leite, isto é, os teores de proteína, minerais e vitaminas vão diminuindo e, em contrapartida, os teores de água, gordura e lactose aumentam.

Enquanto houver disponibilidade de colostro, ele deve ser o alimento a ser fornecido aos bezerros, mesmo após a primeira semana de idade. Deve-se induzir o bezerro a mamar o colostro o

mais rápido possível, após o nascimento, ou então, fornecer-lhe no mínimo 2 kg de colostro da primeira ordenha após o parto, durante as primeiras seis horas de vida.

Há estudos evidenciando que as vacas primíparas produzem menos colostro que as multíparas; que vacas mestiças ordenhadas manualmente produzem mais colostro que as ordenhadas mecanicamente; que o fato de os bezerros mamarem aumenta a produção de colostro; e que vacas com potencial mais alto de produção de leite também produzem maior quantidade de colostro (Schmidt, 1979c).

Durante a fase de colostro, o mais indicado é ordenhar a vaca duas a três vezes ao dia, desde o primeiro dia pós-parto. Em sistemas de aleitamento natural, essa ordenha deve ser feita após o bezerro ter mamado.

Na ocorrência de indisponibilidade de colostro, a seguinte mistura pode ser fornecida três vezes ao dia durante os primeiros três a quatro dias de vida do bezerro: 1 ovo batido em 300 ml de água, 1 colher (de chá) de óleo vegetal e 600 ml de leite integral. A clara de ovo tem efeito bactericida contra alguns agentes causadores de diarréias. A albumina do ovo, como as globulinas do colostro, pode passar inalterada para a corrente sanguínea no bezerro neonato.

Tabela 2. Comparação dos constituintes do leite e do colostro bovino.

Constituintes	Leite normal (%)	Colostro 0 h (%)	Colostro 72 h (%)
Água	87,3	73,1	86,6
Lipídios	3,7	3,5	4,1
Lactose	4,8	3,0	4,1
Proteínas	3,5	19,2	4,36
Proteinas	(2,9*0,6**)	(2,65* 16,56**)	(3,33*1,03**)
Cinzas	0,72	1,18	0,82

<sup>\*</sup> caseína; \*\* lactalbumina + globulinas

# COMPONENTES DO LEITE E SUA SÍNTESE

A formação do leite demanda um enorme trabalho metabólico. Em uma vaca leiteira, é requerida a passagem de 450 litros de sangue pela glândula mamária para produzir 1 litro de leite. A quantidade de leite produzido varia muito em função da espécie e da raça, além da variação individual. Algumas espécies, como a vaca, a cabra e a ovelha foram selecionadas geneticamente para produzir leite para o consumo humano, em quantidades que estão além de suas necessidades biológicas. De forma geral, as quantidades diárias de leite produzidas são de 11 a 45 kg na vaca, 9 a 23 kg na égua, 1,3 a 7 kg na cabra, 1 a 4,5 kg na ovelha, e 2 a 9 kg na porca.

# Água.

O conteúdo de água no leite depende da síntese de lactose. O mamífero neonato não é capaz de procurar água por seus próprios meios e pode desidratar rapidamente sem o fornecimento da água do leite. A quantidade de água no leite pode variar desde pouco conteúdo, no caso de mamíferos marinos, até alto conteúdo, no caso do leite bovino. O leite de vaca contém 87% de água.

A adição de água no leite bovino pode ser detectada por vários métodos. Esses métodos estão baseados em variações no ponto de congelamento do leite (método crioscópico) ou em mudanças na refração de luz do componente sólido do leite após precipitação e remoção da caseína e da gordura (soro do leite) usando ácido acético ou sulfato de cobre. Esses métodos e outros métodos padrão de testes do leite estão descritos no Manual Oficial de Procedimentos Analíticos da AOAC (Association of Official Agricultural Chemists), publicado pela Academia Nacional de Ciências dos EUA.

#### Glicídeos.

A lactose é o principal glicídeo do leite. É um dissacarídeo composto pelos monossacarídeos D-glicose e D-galactose, ligados por ponte glicosídica β-1,4. O nome químico da lactose é 4-β-D-galactopiranosil-D-glicopiranose.

A lactose aparece essencialmente no leite, muito embora tenha sido identificada em algumas frutas. Das espécies mamíferas, só alguns marsupiais têm um açúcar alternativo à lactose, geralmente um trissacarídeo de glicose e galactose.

A lactose tem importante papel na síntese do leite. É o principal fator osmótico no leite, responsável por 50% desta variável, e no processo de síntese do leite "atrai" água para as células epiteliais mamárias. Em função da estreita relação entre a síntese de lactose e a quantidade de água drenada para o leite, o conteúdo de lactose é o componente do leite que menos tem variação (Tabela 1).

A lactose não é tão doce quanto outros dissacarídeos, como a sacarose (açúcar de glicose-glicose), ou os monossacarídeos fructose ou glicose. No intestino do ruminante neonato e nos monogástricos, a lactose é quebrada em unidades de glicose e galactose pela enzima lactase (β-galactosidase). A lactose é a principal fonte de glicose que fornece energia ao animal neonato. A intolerância a lactose pode ocorrer em animais adultos ou naqueles que não tem atividade de lactase no intestino.

Outros glicídeos podem ser encontrados no leite, porém em concentrações muito baixas. Pequenas quantidades de glicose livre (cerca de 0,1 mM) e galactose livre (0,2 mM) são encontradas no leite de vaca e de outras espécies. Também são encontrados amino-açúcares, açúcar-fosfatos, oligossacarídeos e açúcares nucleotídeos. Algumas proteínas do leite são glicosiladas e alguns lipídeos contêm frações glicídicas.

#### Síntese da lactose.

Para a síntese da lactose na célula epitelial mamária, é necessária antes a síntese de galactose, conforme o seguinte processo:

```
glicose + ATP → glicose-6-fosfato + ADP (enzima: hexoquinase)
glicose-6-fosfato → glicose-1-fosfato (enzima: fosfoglicomutase)
glicose-1-fosfato +UTP → UDP-glicose + PPi (enzima: UDP-glicose pirofosforilase)
UDP-glicose → UDP-galactose (enzima: UDP-galactose 4-epimerase)
```

Posteriormente, a enzima lactose sintetase, limitante na secreção de leite e composta por duas subunidades ( $\alpha$ -lactalbumina e galactosil transferase) catalisa a transferência da UDP-galactose sobre a glicose para dar lactose. A glicose, majoritariamente proveniente do sangue, vai para a síntese de lactose (79%) e aquela que não é utilizada para a síntese de lactose vai para síntese de glicerol e fornecimento de energia no processo biossíntético. A disponibilidade de glicose sanguínea é um fator limitante para a síntese de leite. Outros precursores da glicose para a síntese de lactose são propionato, glicerol, pentoses-fosfatos e lactato.

Não existe um aumento considerável das enzimas UDP-galactose-4-epimerase, UDP-glicose-pirofosforilase e fosfoglicomutase no início da lactação no tecido glandular mamário da vaca. Portanto, na vaca, o início da lactação não implica na aquisição de um potencial enzimático para a síntese do leite, sendo que as enzimas precisas existem já durante a gestação.

A glicose da molécula de lactose, que procede diretamente do plasma sangüíneo, não sofre transformação alguma atuando como receptor de unidades de galactosilo (UDP-galactose). A maior parte da galactose procede da glicose, mas uma parte pode provir de uma via distinta. A incorporação do glicerol à galactose tem lugar mediante trocas com unidades tricarbonadas das moléculas de galactose ou fructose, através de uma reação de tipo transaldolase. Na glândula

mamária ocorre também, em certa extensão, a síntese *de novo* de galactose, mas do ponto de vista quantitativo, o precursor mais importante da galactose é a glicose.

#### Gordura.

O componente lipídico do leite é formado por uma complexa mistura, sendo os triglicerídeos os lipídeos mais importantes (98%). Estes estão compostos de três ácidos graxos em ligação covalente a uma molécula de glicerol por pontes éster. A gordura do leite é a principal fonte disponível de lipídeos pelo mamífero neonato para acumular reserva adiposa nos primeiros dias de vida. A maioria dos mamíferos nascem com pouca reserva corporal de gordura para proteção térmica e como fonte de energia.

A gordura do leite é secretada das células epiteliais mamárias na forma de glóbulos graxos, principalmente compostos de triglicerídeos rodeados de uma dupla camada lipídica similar à membrana apical das células epiteliais. Esta membrana ajuda a estabilizar o glóbulo de gordura formando uma emulsão dentro do ambiente aquoso do leite (87% água).

Os lipídeos têm menor densidade que a água, de forma que quando o leite cru é centrifugado, a gordura fica no topo resultando numa camada de creme. A quantidade de glóbulos de gordura é tanta que eles podem também carrear algumas proteínas do leite para o topo de forma que o creme também contém uma pequena quantidade de proteína; esta proteína contribui para a característica de batida do creme de leite. A estabilidade da emulsão pode estar comprometida quando o leite cru fica quieto por algum tempo, o que resulta na subida do creme para o topo. Isto ocorre principalmente em leite mais gordurosa como a de vacas Jersey e Guernsey.

O processo de homogeneização do leite consiste em romper os glóbulos de gordura em tamanhos bem menores, suficiente para que não consigam subir e formar creme sob condições normais de armazenagem. Este evento é importante para processamento, armazenamento e consumo do leite.

A Tabela 1 mostra que a gordura é o componente mais variável do leite. Os mamíferos marinhos têm o maior conteúdo de gordura, enquanto que alguns ungulados têm a menor quantidade.

Nos padrões atuais de consumo, tem sido dada mais importância a baixos teores de gordura e altos teores de proteína do leite.

## Síntese da gordura do leite.

A quantidade e a composição dos triglicerídios do leite variam muito entre as espécies. Nos ruminantes, a proporção de ácidos graxos de cadeia curta e insaturados é bem maior que nos monogástricos. Os precursores dos ácidos graxos sintetizados no tecido mamário incluem glicose, acetato e  $\beta$ -hidroxibutirato. Entretanto, alguns ácidos graxos provenientes da dieta ou do metabolismo ruminal e intestinal são incorporados à glândula mamária a partir do sangue. Uma grande proporção de triglicerídios transportados pelas lipoproteínas do sangue entram na glândula mamária.

Aproximadamente 25% dos ácidos graxos do leite são derivados da dieta e 50% do plasma sanguíneo. O resto é elaborado na glândula mamária a partir de precursores, principalmente de acetato. A glândula mamária possui a enzima glicerol-quinase, podendo portanto produzir glicerol-3-fosfato a partir de glicerol livre, para a síntese de triglicerídios. Contudo, cerca de 70% do glicerol necessário para a síntese de triglicerídios na glândula mamária provém da glicose sanguínea.

Os ácidos graxos de cadeia média (8-12 C) são característicos do leite não sendo possível encontrá-los em outros tecidos.

Os ácidos graxos de 18 átomos de carbono e alguns dos de 16 átomos de carbono derivam quase em sua totalidade do sangue, a partir dos triglicerídeos presentes nos quilomícrons e nas lipoproteínas de baixa densidade. Aparecem apenas quantidades muito baixas de ácidos graxos livres no leite e estes são absorvidos através do sangue.

O acetil-CoA utilizado pela glândula mamária dos ruminantes para a síntese da gordura do leite se forma fundamentalmente a partir do acetato proveniente do sangue, que por sua vez, deriva em grande parte do acetato absorvido no rúmen.

Os ruminantes sintetizam quantidades pequenas de ácidos graxos a partir da glicose, devido à falta de atividade da enzima citrato-liase. O acetil-CoA, formado nas mitocôndrias a partir de piruvato, não pode passar diretamente ao compartimento citoplasmático, devendo ser antes convertido em citrato, que passa sem dificuldades ao citoplasma. Como a atividade da enzima citrato-liase é baixa na maior parte dos tecidos dos ruminantes, o citrato forma poucas unidades de acetil-CoA disponíveis para a síntese de ácidos graxos na glândula mamária dos ruminantes.

Os ácidos graxos de cadeia curta (menos de 14 carbonos) são sintetizados na glândula mamária, com participação do acetato e, provavelmente, do \( \beta\)-hidroxibutirato.

A maior parte do ácido palmítico (16C) deriva dos triglicerídeos do sangue. Os ácidos esteárico e oléico (18C) derivam dos triglicerídeos dos quilomícrons e lipoproteínas de baixa densidade do sangue. O ácido esteárico é precursor do oléico. Tem sido sugerido que a glândula mamária possui um grande *pool* de ácidos graxos de cadeia longa que podem servir de fonte endógena de ácidos graxos para a síntese dos triglicerídeos do leite (Tabela 3).

Tabela 3. Conteúdo de ácidos graxos nos triglicerídeos (TG) da gordura do

leite de v	aca.
Ácidos graxos	Conteúdo
	(% molar nos TG)
S	aturados
Butírico	10
Capróico	3
Caprílico	1
Cáprico	2
Láurico	3
Mirístico	9
Palmítico	21
Esteárico	11
Não	o saturados
Oléico	31
Linoléico	5
outros	4

#### Proteína.

A composição protéica total do leite reúne várias proteínas específicas. Dentro das proteínas do leite, a mais importante é a caseína, que perfaz cerca de 85% das proteínas lácteas. Existem vários tipos identificados de caseínas:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\kappa$ , todas similares na sua estrutura (Tabela 4). As caseínas se agregam formando grânulos insolúveis chamados micelas. As demais proteínas do leite estão em forma solúvel. A caseína têm uma composição de aminoácidos apropriada para o crescimento dos animais jovens. Esta proteína de alta qualidade no leite de vaca é uma das razões pelas quais o leite é tão importante na alimentação humana.

A estrutura granular multimolecular das micelas de caseína está composta de várias proteínas similares, além da própria caseína, mais água e minerais, principalmente cálcio e fósforo. Algumas enzimas também estão associadas às micelas de caseína.

A estrutura micelar da caseína do leite é importante na digestão do leite no estômago e no intestino. Também é a base para os produtos da indústria de laticínios e a base para separar facilmente componentes protéicos de outros componentes do leite.

A caseína é um dos mais abundantes componentes orgânicos do leite, junto à lactose e à gordura. As moléculas individuais de caseína não são muito solúveis no ambiente aquoso do leite. No entanto, os grânulos da micela de caseína mantêm uma suspensão colóide no leite. Se a estrutura micelar se perde, as micelas se dissociam e a caseína fica insolúvel, formando um material gelatinoso conhecido como coalho. Esta é parte da base de formação dos produtos não fluidos derivados do leite.

Tabela 4. Conteúdo de frações de proteína presente no leite.

Fração protéica	Conteúdo no leite desnatado (%)
Caseína α	45-55
Caseína K	8-15
Caseína B	25-35
Caseína y	3-7
α-Lactalbumina	2-5
β-Lactoglobulina	7-12
$IgG_1$	1-2
$IgG_2$	0,2-0,5
IgM	0,1-0,2
IgA	0,05-0,10

Como a micela de caseína é uma suspensão, pode ser separada do resto do leite por centrifugação a alta velocidade. Geralmente o leite é primeiro desengordurado (o creme é retirado) do leite total por centrifugação a baixa velocidade (5.000 a 10.000 g), resultando na camada de creme no topo, um sobrenadante aquoso e um pequeno pellet de leucócitos e outros resíduos celulares. O sobrenadante aquoso é o leite descremado (fase plasmática do leite). A centrifugação do leite descremado em ultracentrífuga (50.000 g ou mais) resulta em um pellet de caseína e um sobrenadante chamado soro (fase sérica do leite) que contém água, lactose e proteínas solúveis não caseínicas. Depois de retirada a caseína, as proteínas restantes no leite são, por definição, proteínas do soro.

A caseína pode também ser separada por precipitação com ácido, similarmente ao que ocorre no estômago quando o leite é consumido, ou quebrando a estrutura micelar por hidrólise parcial das moléculas de proteína com uma enzima proteolítica. No estômago dos animais jovens da maioria das espécies existe a enzima renina que especificamente hidrolisa parte da micela da caseína resultando na formação do coágulo. O método clássico de precipitação da caseína no leite de vaca, feito no laboratório, é mediante a adição lenta de HCl 0,1N para abaixar o pH do leite a 4,6. A caseína gradualmente formará um precipitado enquanto relativamente pouca quantidade das outras proteínas do leite precipitam. Diferentes combinações de precipitação ácida controlada e de hidrólise enzimática da caseína são a base da indústria de queijos. Cultivos específicos de bactérias são usadas para estabelecer as condições para abaixar o pH e secretar enzimas proteolíticas que formam os diferentes tipos de queijos.

As proteínas do soro variam com a espécie animal, o estágio de lactação e a presença de infecções intramamárias, entre outros fatores. As principais proteínas do soro do leite de vaca são a β-lactoglobulina e a α-lactalbumina.

A  $\alpha$ -lactalbumina corresponde a 2-5% do total de proteínas e funciona como uma das subunidades da enzima lactose-sintetase. Esta enzima consta de duas proteínas, a proteína A, uma galactosil-transferase, e a proteína B, que é a  $\alpha$ -lactalbumina. Durante a gestação, a progesterona impede a síntese de  $\alpha$ -lactalbumina, mas não da galactosil-transferase, a qual transfere galactose

sobre outros monossacarídeos diferentes de glicose para participar na formação de oligossacarídeos de membrana. Outras proteínas do leite incluem a β-lactalbumina (7-12%), albumina sérica (1%) e as imunoglobulinas G, M e A (1,3-2,8%). A função da β-lactoglobulina não se conhece. As proteínas do soro também incluem uma longa lista de enzimas, hormônios, fatores de crescimento, transportadores de nutrientes e fatores de resistência a doenças, entre outros.

As caseínas são altamente digestíveis no intestino e são uma fonte de aminoácidos de alta qualidade. A maioria das proteínas séricas são relativamente de baixa digestibilidade no intestino, embora todas elas sejam digeridas em algum grau. Quando não são digeridas no intestino, algumas das proteínas intactas podem estimular uma resposta imune localizada intestinal ou sistêmica, conhecida como alergia a proteínas do leite, mais freqüentemente causada pela β-lactoglobulina.

## Síntese das proteínas do leite.

As principais proteína do leite, que incluem as caseínas, a  $\beta$ -lactoglobulina e a  $\alpha$ -lactalbumina, são sintetizadas nas células epiteliais da glândula mamária e produzidas exclusivamente neste tecido. As imunoglobulinas e a albumina sérica não são sintetizadas pelas células epiteliais, mas são absorvidas do sangue. Uma exceção são as limitadas quantidades de imunoglobulina que são sintetizadas pelos linfócitos presentes no tecido mamário (células plasmáticas). Estas células provêem a glândula mamária de imunidade local.

Os precursores para a síntese das proteínas do leite são aminoácidos livres do sangue em 90% e proteínas séricas em 10%. Entre estas últimas estão as imunoglobulinas. A maior parte do nitrogênio utilizado para a síntese das proteínas do leite procede dos aminoácidos livres absorvidos pela glândula mamária.

Tabela 5. Conteúdo aproximado de aminoácidos da fração protéica do leite.

Aminoácidos essenciais (g/100g de proteína)		Aminoácidos não essenciais (g/100g de proteína)			
Arginina	3,6	Alanina	3,6		
Histidina	2,7	Ácido aspártico	7,2		
Isoleucina	5,6	Cistina	0,7		
Leucina	9,7	Ácido glutâmico	23,0		
Lisina	7,9	Glicocola	2,0		
Metionina	2,5	Prolina	9,2		
Fenilalanina	5,2	Serina	5,8		
Treonina	4,6	Tirosina	5,1		
Triptófano	1,3				
Valina	6,6				

Os aminoácidos essenciais arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, treonina e valina são absorvidos a partir do sangue em quantidade suficiente para sintetizar as proteínas da glândula mamária. Os aminoácidos não-essenciais são absorvidos como aminoácidos livres, a partir do sangue, e outros são sintetizados na glândula mamária (Tabela 5).

O controle da síntese protéica é feito mediante inibição por *feedback* e inibição por repressão e, em ambos os casos, o acúmulo dos produtos finais é a causa da inibição da atividade enzimática responsável por frear a síntese protéica. O controle também poderia ser feito por genes operadores.

#### Minerais.

Os principais minerais encontrados no leite são cálcio e fósforo. Esses minerais são utilizados em grandes quantidades pelo animal neonato para o crescimento de ossos e o desenvolvimento de

tecidos macios. Eles estão basicamente associados com a estrutura das micelas de caseína. Consequentemente, o soro tem relativamente pouco cálcio e fósforo, comparado com o leite inteiro. O leite também contém pequenas quantidades da maioria dos demais minerais encontrados no organismo animal (Tabela 6).

Uma razoável percentagem do cálcio (25%), do magnésio (20%) e do fósforo (44%) se encontra em forma solúvel. O cálcio e o magnésio insolúveis se encontram física ou quimicamente combinados com caseinato, citrato ou fosfato. Assim, o leite tem um mecanismo que lhe permite acumular uma concentração elevada de cálcio ao tempo em que mantém o equilíbrio osmótico com o sangue.

Tabela 6. Minerais mais abundantes no leite bovino.

Mineral	% do leite total	% em forma solúvel
Cálcio	0,12	24
Fósforo	0,10	44
Potássio	0,15	100
Cloro	0,11	100
Magnésio	0,01	20
Sódio	0,05	100

A capacidade tampão do leite se deve ao seu conteúdo de citrato, fosfato, bicarbonato e proteína. A ação conjunta de todos estes sistemas tampão mantém a concentração de hidrogênio do leite próximo a um pH de 6,6. A totalidade dos demais minerais fundamentais se acha em forma solúvel.

O cálcio do leite procede do plasma sangüíneo, que tem por sua vez origem nos alimentos e no esqueleto. Em geral, resulta difícil aumentar o conteúdo de cálcio do leite incrementando-o no alimento, uma vez que há um equilíbrio entre o cálcio sangüíneo e o cálcio do esqueleto.

O leite de animais sadios têm conteúdo de lactose, potássio, e sódio constante. A concentração de cada um destes componentes constitui uma constante individual. Também, em cada raça, se observa uma relação muito precisa entre a concentração da lactose e a soma das concentrações molares de sódio e de potássio, bem como uma relação inversa entre o conteúdo de lactose e o de potássio. O leite está em equilíbrio osmótico com o sangue e a pressão osmótica do leite, em função do conteúdo de lactose, sódio, potássio e cloro, favorece a entrada de água na célula epitelial mamária para formar o leite e controla, em parte, o volume de leite produzido.

O leite secretado pela célula é mais rico em sódio e em cloro que o obtido do úbere através da ordenha. Isto pode ser explicado admitindo-se que à medida que o leite vai passando pelos alvéolos até a cisterna, através dos dutos galactóforos, o sódio e o cloro são reabsorvidos. Esta reabsorção seria contra um gradiente de concentração e provavelmente implicaria em consumo de ATP. A redução da irrigação dos dutos galactóforos ou a interferência nos processos de reabsorção teriam como consequência o aumento do conteúdo de sódio e cloro do leite. As concentrações de sódio e potássio parecem ser mantidas por meio de uma bomba de sódio ATP-dependente, já que o conteúdo de potássio é alto e o de sódio é baixo no interior da célula. Esta bomba transfere o potássio para o interior e o sódio ao exterior da célula.

A maioria dos oligoelementos (arsênio, boro, cobalto, cobre, flúor, ferro, iodo, manganês, molibdênio, zinco e em menor quantidade alumínio, bário, bromo, cromo e selênio) se encontram em complexos orgânicos. Dentre os oligominerais, o zinco é relativamente abundante no leite (12% dissolvido e o resto associado a partículas de caseinato). O colostro contém várias vezes a quantidade de oligoelementos observados no leite normal (Tabela 7).

#### Outros componentes do leite.

O leite sempre contém leucócitos, também conhecidas como células somáticas no leite de vaca. A concentração destas células no leite varia com a espécie (o leite humano tem relativamente alta quantidade de células somáticas, enquanto que o leite de vaca, com glândula mamária sadia, tem baixa contagem celular), situações de infecção da glândula mamária e estágio da lactação.

O leite contém enzimas como a peroxidase e a catalase, as quais aumentam nos processos inflamatórios e sua elevação é usada nos métodos diagnósticos de mastite. Outras enzimas presentes no leite incluem fosfatases, xantino-oxidase e redutases.

A glândula mamária não pode sintetizar vitaminas. Portanto, para sua secreção no leite depende do aporte sangüíneo. As vitaminas podem ser sintetizadas pelas bactérias do rúmen ou podem ser convertidas na forma ativa a partir de pró-vitaminas no figado, intestino delgado e pele ou proceder diretamente dos alimentos.

O leite contém todas as principais vitaminas. As vitaminas lipossolúveis A, D, E e K são encontradas basicamente na gordura do leite, porém com limitadas quantidades de vitamina K (Tabela 8).

Tabela 7. Conteúdo de minerais traço do leite de vaca.

Mineral	Conteúdo (partes por milhão)
Arsênio	0,05
Boro	0,2
Cobalto	0,001
Cobre	0,13
Flúor	0,15
Iodo	0,04
Ferro	0,45
Manganês	0,03
Molibdênio	0,05
Zinco	3,7

A vitamina A tem como precursores os carotenóides, principalmente o β-caroteno, que se transformam em vitamina A na parede do intestino delgado. A eficácia desta conversão na vaca é relativamente pequena e é distinta conforme as diferentes raças. Por exemplo, as raças Jersey e Guernsey convertem uma proporção maior de caroteno em vitamina A e por isso o leite apresenta-se amarelado nestas raças. A administração de níveis altos de caroteno ou vitamina A na dieta resultam em uma diminuição da eficácia do processo de conversão, enquanto que se os níveis da vitamina ou da pró-vitamina na dieta são mais baixos, a eficácia do processo é superior. O figado é capaz de armazenar quantidades altas de vitamina A. O colostro é uma fonte rica de vitamina A (4 a 25 vezes mais que o leite normal).

A vitamina D do leite se encontra em forma de vitamina  $D_2$ , que resulta da irradiação do ergosterol da dieta, e vitamina  $D_3$ , um derivado do 7-dehidrocolesterol, produzido por ação direta dos raios ultravioleta sobre o animal. O conteúdo em vitamina D está, portanto, diretamente relacionado com o conteúdo de ergosterol da dieta do animal e com sua exposição à luz solar. O colostro contém de 3 a 10 vezes mais vitamina D que o leite normal.

No leite de vaca, a vitamina E se encontra em forma de α-tocoferol e a quantidade presente no leite tem uma estreita relação com a dieta do animal. O colostro contém de 2,5 a 7 vezes mais vitamina E que o leite normal. O leite é uma fonte relativamente pobre de vitamina K, mas o conteúdo desta vitamina no leite não se modifica se forem alterados seus níveis na dieta.

Das vitaminas hidrossolúveis, aquelas do complexo B são sintetizadas na microflora do rúmen. O colostro contém mais tiamina, riboflavina, vitamina  $B_6$ , colina, ácido fólico e vitamina  $B_{12}$  que o leite normal.

A vitamina C está presente no leite como duas formas ativas: ácido ascórbico (estável e reduzido) e ácido dehidroascórbico (reversivelmente oxidado). O conteúdo de vitamina C é pouco afetado por fatores como dieta, idade, raça, etapa da lactação ou época do ano. Os ruminantes são capazes de sintetizar vitamina C. Um excesso de vitamina C na dieta administrada a ruminantes, é rapidamente destruído pelas bactérias ou é excretado. O leite não constitui uma fonte importante de vitamina C, uma vez que grande parte do conteúdo em ácido ascórbico do leite fresco é destruído no processo de pasteurização.

Tabela 8. Conteúdo vitamínico do leite de vaca.

Vitamina	Conteúdo
	(UI/l)
Vitamina A	1.511
Vitamina D	13,7-33,0
	(mg/l)
Tiamina	0,45
Riboflavina	1,81
Ácido nicotínico	0,97
Ácido pantotênico	3,57
Vitamina B <sub>6</sub>	0,66
Biotina	0,032
Ácido fólico	0,0029
Vitamina B <sub>12</sub>	0,0044
Colina	125
Ácido ascórbico	21,8
Vitamina E	1,01
Inositol	110

# HORMÔNIOS DA LACTAÇÃO

## Introdução.

A lactação é um estado fisiológico que se inicia com o parto e que pode ser considerado como o último evento do ciclo reprodutivo dos mamíferos. O leite tem como objetivo nutrir ao neonato por um tempo que varia conforme a espécie. Além disto, o colostro é muito importante para a sobrevivência do neonato devido à alta concentração de anticorpos que lhe confere imunidade passiva, especialmente nas espécies de placentação epitélio-corial, como os ruminantes, a égua e a porca. Nessas espécies, o colostro é produzido nas primeiras 72-96 horas depois do parto. Além de ser fonte de imunoglobulinas, o colostro é também rico em gordura, proteínas e vitaminas, porém é baixo em lactose, quando comparado com o leite (Tabela 2). Pelo menos 50% do conteúdo de proteínas do colostro está representado por imunoglobulinas.

O epitélio intestinal do neonato é permeável às imunoglobulinas nas primeiras 12-16 horas de vida, mas essa permeabilidade desaparece após 24 horas. O colostro também é rico em elementos celulares (corpúsculos de Donné).

## Mamogênese: desenvolvimento da glândula mamária.

Na fêmea recém-nascida, a glândula mamária apresenta estruturas similares ao adulto, porém de menor tamanho. Antes da puberdade, praticamente não ocorre crescimento mamário. Chegando na puberdade, com a iniciação dos ciclos estrais, ocorre um leve crescimento da glândula mamária, mas o maior desenvolvimento acontece durante a gestação, quando se formam os dutos inter-alveolares e os alvéolos começam a aparecer.

A quantidade de tecido secretor da glândula mamária na vaca aumenta pouco nos primeiros meses de gestação, começando a aumentar a partir do 4º mês. No 5º mês de gestação o tecido secretor substitui o tecido adiposo formando microlóbulos e dutos que vão crescendo durante o resto da gestação. Os tecidos vascular e linfático também vão ocupando espaço de forma que no 9º mês de gestação o alvéolos mostram atividade secretora.

Em novilhas ou vacas novas de alta produção, pode ocorrer edema da glândula mamária e do tecido adjacente antes do parto, ao ponto de ocasionar dor e desconforto, necrose da pele e falha na descida do leite. Este fato é devido ao desequilíbrio circulatório causado pelo grande fluxo de sangue à glândula, maior do que o sistema venoso pode comportar. Nesses casos, convém fazer massagens e aplicações quentes e frias e usar drogas anti-inflamatórias leves, além de fazer ordenha prévia e exercício moderado.

O tecido mamário continua a crescer após o parto e alcança o máximo crescimento durante o pico de lactação, sofrendo regressão após esse período. A quantidade de secreção de leite depende do crescimento do tecido epitelial túbulo-alveolar da glândula mamária, processo que está sob controle hormonal. Com as gestações sucessivas, a glândula mamária vai aumentando seu desenvolvimento até atingir seu máximo potencial na 3ª ou 4ª gestação, cujas correspondentes lactações coincidem com o rendimento máximo.

Em 1956 foi proposto que os estrógenos eram importantes no crescimento dos dutos, ao passo que a progesterona promovia o desenvolvimento lóbulo-alveolar. Esse conceito se mantém até hoje, mas foram identificados outros hormônios que também participam do processo, entre eles o hormônio do crescimento (GH), a corticotropina (ACTH) e a prolactina (PRL), todos da adenohipófise, além dos hormônios tireoidianos. Existem receptores para estrógenos no citoplasma das células epitélio-alveolares do tecido mamário, que aumentam em número durante a gestação por efeito da prolactina. A progesterona também possui receptores nas células do tecido mamário, que estão presentes durante a gestação, porém ausentes durante a lactação. Aparentemente a ação dos estrógenos precede à ação da progesterona.

O GH e a PRL parecem atuar diretamente sobre o tecido mamário, sendo necessários para a ação dos esteróides ováricos. O GH tem mais efeito sobre o sistema canalicular e a PRL sobre o desenvolvimento lóbulo-alveolar. A tireotropina (TSH) e o ACTH atuam indiretamente por estimular a secreção dos hormônios tireoidianos (T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub>) e os glicocorticóides. Estes dois últimos grupos de hormônios parecem ter uma ação secundária na mamogênese através da promoção de mudanças metabólicas favoráveis para o desenvolvimento do tecido mamário.

A insulina também possui receptores na célula mamária e parece influir positivamente no crescimento do tecido mamário por estimular a mitose e melhorar a utilização da glicose. A relaxina, hormônio peptídico do ovário, parece ter ação sinérgica com os esteróides ovarianos no crescimento da glândula mamária.

Na maioria das espécies, o hormônio lactogênio placentário (somatomamotropina), peptídeo estruturalmente análogo à PRL e ao GH, tem ação sinérgica com os estrógenos, a progesterona, a PRL e o GH para o desenvolvimento da glândula mamária durante a gestação. Na cabra e na ovelha, gestações gemelares induzem maior desenvolvimento mamário e portanto maior secreção de leite, devido à maior produção de lactogênio placentário.

Em animais não gestantes pode ser induzido crescimento mamário com combinações de estrógenos e progesterona, mediante injeções ou implantes por 1 a 3 semanas para induzir a formação de alvéolos e dutos. Após este período, é necessário começar com a ordenha para

estimular a produção de leite. A quantidade de leite produzido desta forma é muito variável e o tratamento pode ter como efeito colateral a formação de cistos ovarianos e apresentação de ninfomania.

#### Lactogênese: iniciação da lactação.

A unidade anatômico-funcional do tecido mamário secretor é o alvéolo, estrutura sacular cujas paredes estão compostas de células epiteliais secretoras. Cerca de 150 a 220 alvéolos formam o lóbulo, que possui um duto drenado por um duto comum maior. Grupos de lóbulos formam lobos separados por septos de tecido conectivo. Os dutos lobulares confluem a um canal galactóforo que por sua vez desemboca no seio galactóforo, em comunicação com a cisterna da glândula. Cada alvéolo é irrigado por uma rede de capilares que fornece os nutrientes necessários para a síntese do leite. Os elementos contráteis do alvéolo são as células mioepiteliais, as quais são sensíveis a ocitocina. Em volta do alvéolo existe tecido conectivo, que adquire maior proporção durante a involução da glândula mamária.

O processo de lactogênese compreende a diferenciação das células mamárias, as quais passam de um estado não secretor para um estado secretor. Esse processo envolve duas etapas:

- (a) Diferenciação histológica e bioquímica das células epiteliais alveolares, que ocorre durante o terço final da gestação. Estas diferenças podem ser evidenciadas pelo aumento da relação RNA/DNA, que de um valor <1 durante a gestação, passa para 2 no início da lactação, indicando aumento da síntese de proteínas e pelo aumento do quociente respiratório, que indica aumento da oxidação de substratos energéticos;
- (b) Início da secreção dos produtos do leite, geralmente 1-4 dias antes depois do parto.

A mudança mais evidente na histologia da célula epitelial ocorre na última semana antes do parto. Ocorre acúmulo de gotas lipídicas e presença de vacúolos, contendo micelas de caseína. Seis horas depois do parto, começa a secreção das gotas lipídicas e das micelas, por um mecanismo ainda desconhecido. Em seguida, e em resposta às mudanças endócrinas que ocorrem após o parto, há uma rápida proliferação do retículo endoplasmático rugoso, do aparelho de Golgi e de mitocôndrias. Este aumento no maquinário ultraestrutural da célula, vem acompanhado de uma onda de divisão mitótica, atingindo sua capacidade máxima de produção vários dias depois do parto.

Na vaca, a atividade enzimática e o nível de metabólitos disponíveis seriam suficientes para iniciar a lactação desde duas semanas antes do parto. Entretanto, o estímulo para o início dessa secreção ocorre com a queda nos níveis de progesterona que acontece com o parto. As mudanças nos níveis de glicocorticóides e PRL parecem contribuir mais com o alto conteúdo de enzimas nas células mamárias do que com o efeito "disparador" da lactação. Portanto, os requerimentos hormonais mínimos para a lactogênese envolvem o aumento nos níveis de PRL, glicocorticóides e estradiol, bem como a diminuição de progesterona.

Parece que uma das funções da PRL é estimular a expressão dos genes da caseína e outras proteínas. Entre outras funções da PRL estão o aumento das membranas do aparelho de Golgi e a indução da síntese de α-lactalbumina, lactose e gordura do leite. Embora aconteça secreção de PRL durante a gestação, os altos níveis de estrógenos e de progesterona inibem os receptores de PRL no tecido mamário, protelando a lactogênese até que os níveis desses esteróides declinem no período do periparto. A PRL parece exercer sua função lactogênica mediante a indução da diferenciação bioquímica nas vias metabólicas envolvidas na síntese do leite.

Embora a PRL parece ser essencial para a expressão máxima do processo lactogênico, não é o único hormônio responsável pela lactogênese. Estudos revelam que a inibição da secreção de PRL mediante alcalóides do ergot, como a bromocriptina, mantém ainda a lactação em 55% do normal (Tucker, 1988).

O controle mais importante da secreção e liberação de PRL é através da dopamina, um

neurotransmissor que exerce efeito inibitório sobre as células lactotróficas da hipófise. O estresse tem sido considerado como fator que aumenta os níveis de PRL, talvez através da inibição da dopamina. Por outra parte, o estímulo da amamentação diminui os níveis de dopamina e, portanto, aumenta a secreção de PRL. Os hormônios tireoidianos e os estrógenos também estimulam a secreção de PRL.

Existe influência sinérgica com a PRL para a secreção do leite por parte do ACTH e dos hormônios tireoidianos. O efeito lactogênico do ACTH está mediado pela estimulação da secreção de glicocorticóides. A função dos glicocorticóides parece ser a indução da diferenciação do retículo endoplasmático rugoso e do aparelho de Golgi, bem como o aumento dos níveis de mRNA.

O cortisol é essencial para que a PRL possa estimular a expressão do gene da caseína e outros genes. A concentração de glicocorticóides permanece baixa durante a gestação, mas nos dias anteriores ao parto sofre um marcado aumento que tem seu pico no momento do parto. A concentração da proteína transportadora de glicocorticóides (CBG) diminui antes do parto, permitindo a maior disponibilidade dos glicocorticóides para sua ação no tecido mamário.

A secreção de lactogênio placentário, que é iniciada no meio da gestação, diminui antes do parto sendo pouca ou nula a sua participação no processo lactogênico. A ação do lactogênio placentário está mediado pelo receptor para PRL e é inibida pelas elevadas concentrações de progesterona, a qual é comprovadamente inibidora dos receptores de PRL.

A progesterona é inibitória sobre a lactogênese. O efeito negativo da progesterona parece consistir em sua união aos receptores dos glicocorticóides na célula mamária e em aumentar a proporção de corticóides ligados à CBG, diminuindo a quantidade deles em forma livre para atuar na célula. Na vaca, ocorre uma marcada diminuição de progesterona 24-48 horas antes do parto, coincidindo com o estágio inicial da lactogênese. Na mulher, entretanto, os altos níveis de progesterona persistem por várias horas após o parto, retardando o início da lactação. Portanto, a diminuição da secreção de progesterona está intimamente associada à indução da secreção de leite. Contudo, assim que a glândula mamária completa sua diferenciação e inicia sua atividade secretora, a progesterona perde a capacidade inibitória sobre a lactação.

Os estrógenos também parecem estimular a produção de leite sem que se saiba o mecanismo exato. Os estrógenos e os glicocorticóides aumentam o número de receptores para PRL nos alvéolos mamários de forma a contribuir para a resposta do tecido mamário tanto da PRL como dos próprios glicocorticóides.

As prostaglandinas também têm participação na lactogênese. Como a prostaglandina  $F_{2\alpha}$  é luteolítica, tem sido relacionada com a resposta lactogênica por causar diminuição de progesterona. O complexo lactogênico está, portanto, formado por PRL, GH, glicocorticóides, hormônios tireoidianos e ACTH.

O GH está envolvido no estímulo da lactogênese por mecanismos ainda não esclarecidos. Seus níveis, que se mantém relativamente estáveis durante a gestação, aumentam significativamente no parto e durante a lactação, sugerindo que sua função é importante durante a segunda fase da lactogênese.

### Manutenção da lactação.

A produção láctea nas vacas aumenta gradativamente até atingir o pico de produção a 8-9 semanas pós-parto, para depois diminuir lentamente. A produção de leite varia em função de: (a) o potencial genético; (b) o nível nutricional; (c) o manejo; (d) a condição sanitária; e (e) a idade.

A amamentação estimula a lactação de duas maneiras: primeiro por diminuir o efeito inibitório da pressão intramamária causado pela acumulação de leite na glândula mamária, e segundo por estimular via nervosa a secreção de hormônios lactogênicos (PRL, ocitocina, ACTH). Contudo, esse efeito estimulatório diminui com o avanço da lactação, talvez devido à dessensibilização do sistema neurotransmissor que controla a secreção de PRL.

O termo homeorrese é referido à regulação endócrina que permite a distribuição de nutrientes necessários para a manutenção da lactação ou de qualquer outro estado fisiológico. Os hormônios associados à manutenção da lactação são principalmente hipofisiários e incluem PRL, GH, ACTH e TSH. Além dos hormônios da hipófise, estão incluídos como participantes do processo de manutenção da lactação a insulina, o hormônio da paratiréoide (PTH), os glicocorticóides e a tiroxina

A ação da PRL varia nas diferentes espécies. Em vacas e cabras, a PRL parece ter maior importância na lactogênese, porém menor na manutenção da lactação, ao passo que no coelho tem provada ação galactopoiética. Em ruminantes, a PRL é útil para manter níveis máximos de produção de leite, sem no entanto, ser necessária para a manutenção da lactação. A PRL teria maior importância na manutenção da lactação em animais não ruminantes.

O GH tem ação sinérgica com a PRL, os glicocorticóides e os hormônios tireoidianos para estimular a lactação em animais hipofisectomizados. Em 1937, foi observado que a administração de extratos crus de hipófise estimulavam a produção de leite em vacas. Anos depois, foi identificado o GH como sendo o fator estimulatório. Foi o início da utilização de GH como fator galactopoiético de forma comercial, fato facilitado depois com a produção do hormônio recombinante (rGH).

Existe uma relação linear entre a percentagem de aumento da secreção de leite e o logaritmo da dose exógena de GH. Em geral, é considerado que ocorre um incremento de produção de leite entre 6 a 35% mediante o uso de GH exógeno. O rGH possui uma atividade galactopoiética maior do que o GH extraído da hipófise, produzindo aumentos de produção entre 23 a 41%. O maior efeito galactopoiético do rGH pode ser devido ao fato de possuir uma metionina N-terminal adicional quando comparado ao GH hipofisiário, que faz com que sua degradação seja mais lenta.

Os mecanismos através dos quais o GH provoca o efeito galactopoiético passam pelo estímulo da produção de somatomedinas no fígado e o conseqüente estímulo mobilizador de reservas corporais para obter um efeito estimulador da homeorrese sobre a glândula mamária. Em geral, o efeito envolve mudanças coordenadas no metabolismo corporal de proteínas, lipídios e glicídios de forma a direcioná-los para a síntese de leite. Assim, entre as ações do GH estão: (a) estimular a capacidade do fígado para metabolizar propionato como fonte de glicose; (b) estimular a biossíntese de α-lactalbumina na glândula mamária; (c) aumentar a taxa de gasto de glicose para sintetizar lactose no tecido mamário, porém reduzindo a taxa de oxidação de glicose em outros tecidos; (d) aumentar a distribuição de aminoácidos para a produção de proteínas do leite, embora dependendo da reserva de proteínas; e (e) aumentar a mobilização de lipídios, quando o animal está em balanço energético negativo, permitindo a maior utilização de ácidos graxos livres, para poupar glicose.

Os glicocorticóides fazem parte do complexo endócrino da manutenção da lactação. Eles favorecem o metabolismo, especialmente da glicose, para aumentar a sua disponibilidade na glândula mamária. No entanto, os glicocorticóides exógenos podem provocar inibição da lactação, quando se utilizam em doses elevadas.

Os hormônios tireoidianos são essenciais para a resposta máxima de secreção de leite. A administração desses hormônios estimula o desempenho produtivo em várias espécies, especialmente em ruminantes, nos quais o aumento pode ser de 27%. O efeito galactopoiético dos hormônios tireoidianos foi estudado em vacas na década de 1960 quando se utilizou a tirocaseína, uma proteína iodada com atividade de tiroxina, fornecida no alimento. Administrada em vários estágios da lactação, a tirocaseína aumenta a produção em 10-20%. Porém, o consumo de alimento também aumenta, efeito não observado com o GH e a produção cai abruptamente quando é interrompida a administração de tirocaseína, razões que desestimularam seu uso.

A secreção de PTH é estimulada quando os níveis de cálcio sanguíneo diminuem. No parto, a concentração de PTH aumenta para extrair reservas de cálcio dos ossos, ao passo que os níveis de 1,25-dihidroxi-vitamina D<sub>3</sub> aumentam para melhorar a absorção de cálcio no intestino. Esses dois hormônios seriam então determinantes no performance lactacional.

A administração de estrógenos naturais ou sintéticos ou combinações de estrógenos e

progestinas ou de estrógenos e andrógenos inibem a secreção de leite em várias espécies. Em mulheres têm sido usados para inibir a lactação. O efeito inibitório está associado com o desaparecimento das miofibrilas das células mioepiteliais. Na época do estro, ocorre uma leve queda de produção de leite devido ao aumento dos estrógenos, embora também entrem como causas a intranqüilidade e o nervosismo, bem como a perda de apetite próprios desse período. Nas vacas gestantes, o aumento gradual de produção de estrógenos próprios no terço final da gestação, bem como o aumento da demanda nutritiva do feto, tendem a diminuir a produção de leite.

A progesterona inibe a lactogênese, no início da lactação, porém não inibe a lactação já estabelecida, talvez devido ao desaparecimento dos receptores para progesterona na glândula mamária. Além disso, a progesterona tem mais afinidade pelos lipídios do leite do que pelos receptores, de forma que a gordura do leite "seqüestra" a progesterona e impede sua atividade biológica.

A insulina exógena pode aumentar os níveis de gordura e de proteína no leite, por melhorar a captação de aminoácidos e ácidos graxos e aumentar o metabolismo na glândula mamária.

A atividade de ejeção do leite está relacionada com a liberação de ocitocina da pituitária posterior, hormônio que causa contração das células mioepiteliais dos alvéolos e dos dutos. A liberação de ocitocina da neurohipófise é ocasionada pelo estímulo nervoso da palpação da úbere, da amamentação, da presença do bezerro e de outros estímulos associados à ordenha, tais como movimentação de baldes, alimentação ou a presença do ordenhador. A liberação de ocitocina pode ser inibida por estresse ou por dor, mediante a liberação de adrenalina, a qual tem um efeito central, inibindo a liberação de ocitocina da neurohipófise e um efeito periférico por causar vasoconstrição e, talvez também, por bloquear a união da ocitocina aos receptores da glândula mamária.

Embora a ocitocina exógena seja galactopoiética, sua função está restrita ao reflexo da ejeção, pois a concentração basal e as taxas de secreção desse hormônio são iguais no pico de produção e durante a involução mamária. Além disso, a curta meia-vida deste hormônio (1-2 min) faz com seu efeito seja transitório. Na cabra, não ocorre secreção de ocitocina durante a ordenha, não sendo necessário este hormônio para o esvaziamento da glândula mamária. Em novilhas que sofrem de edema profuso, a dor chega a bloquear a secreção de ocitocina, impedindo a saída do leite. Nesses casos, é recomendada uma aplicação de ocitocina exógena (5-15 U) ou então massagens via retal do útero e das estruturas intrapelvianas.

A vaca deve ser seca pelo menos 40 dias antes do seguinte parto para garantir uma adequada produção na seguinte lactação. A melhor forma de secar uma vaca é deixando de ordenhar por 4 a 5 dias, pois a evacuação do leite é um estímulo necessário na manutenção da lactação. Períodos secos menores de 40 dias causam diminuição da ordem de 20 a 30% na produção de leite da seguinte lactação, provavelmente devido à falta de renovação e regeneração das células epitélio-alveolares. Em algumas vacas de alta produção que são difíceis de secar, devem ser aplicadas restrições severas de água e alimento por alguns dias, além de aumentar gradativamente os períodos entre ordenhas. Não é aconselhável usar estrógenos, apesar de seu efeito inibitório sobre a lactação, devido aos efeitos colaterais de hiperestrogenismo e ninfomania, com possível formação de cistos.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Akers RM (1990). Lactation physiology: a ruminant animal perspective. *Protoplasma* 159: 96-111.

Fox PF (1992). Advanced Dairy Chemistry Vol.1 Proteins. Elsevier Applied Science, London.

Fredeen AH (1996): Considerations in the milk nutritional modification of milk composition. *Animal Feed Science Technology*, 59:185-197.

Jensen RG (1995). Handbook of Milk Composition. Academic Press, San Diego.

Hafez ESE (1995) Reprodução animal. 6ª edição. São Paulo: Editora Manole Ltda.

- Mepham TB (1983). Biochemistry of Lactation. Elsevier, London.
- Schmidt GH (1979a): Lactosa, minerales y vitaminas. In: *Biología de la Lactación*, pp. 239-254. Editorial Acribia, Zaragoza España.
- Schmidt GH (1979b): Síntesis de la grasa de la leche. In: *Biología de la Lactación*, p. 225-238. Editorial Acribia, Zaragoza España.
- Schmidt GH (1979c): Síntesis de las proteínas de la leche. In: *Biología de la Lactación*, pp. 215-224. Editorial Acribia, Zaragoza España.
- Tucker HA (1988). Lactation and its hormonal control. In: *The Physiology of Reproduction*. E. Knobil, J. Neill (eds.). New York: Raven Press.
- Walstra P, Jenness R (1984). Dairy Chemistry and Physics. John Wiley & Sons, New York.

# DETERMINAÇÃO LABORATORIAL DOS COMPONENTES DO LEITE\*

João Walter Dürr, Roberto Serena Fontaneli e Darlene Venturini Moro

Centro de Pesquisas em Alimentação Faculdade de Agronomia e Veterinária Universidade de Passo Fundo durr@upf.tche.br

#### A composição do leite.

Os componentes naturais do leite podem ser classificados como principais e secundários quanto a sua contribuição por unidade de massa. Os constituintes principais são a água, a gordura, as proteínas e a lactose, enquanto os constituintes secundários englobam basicamente minerais e vitaminas. Os principais fatores que afetam a composição natural do leite são a dieta, a constituição genética, a estação do ano, o estágio de lactação, o manejo da ordenha e a sanidade (Dürr et al., 2000).

O acompanhamento da composição do leite cru é de grande importância por três motivos: (a) avaliação da dieta e do metabolismo das vacas em lactação; (b) classificação do leite pelo seu valor como matéria prima para a indústria processadora; e (c) verificação da integridade do leite quanto a adição ou retirada de componentes.

Devido à grande variabilidade existente na composição do leite, as análises para a sua determinação devem ser precisas o suficiente para não confundir a interpretação dos resultados, rápidas o suficiente para permitir que se relacione os resultados com as condições ainda vigentes no rebanho e baratas o suficiente para que se tornem parte da rotina dos rebanhos leiteiros. O objetivo do presente artigo é discutir o impacto da amostragem e da manipulação da amostra de leite para a análise de componentes, registrar rapidamente os principais métodos de análise utilizados para cada componente e relacionar algumas determinações laboratoriais complementares que facilitam a interpretação das análises de composição do leite.

# O impacto da amostragem.

Em um programa de monitoramento dos componentes do leite, as técnicas de coleta, conservação e transporte de amostras podem vir a comprometer todo o esforço e investimento realizados caso não sejam administradas de forma correta. Isto é particularmente verdade em um país como o Brasil, onde a produção de leite é realizada por um enorme número de pequenos rebanhos, cuja infra-estrutura para resfriamento e transporte a granel do leite apresenta uma série de fragilidades. Os resultados de análise laboratorial de uma amostra de leite vão ser tão confiáveis quanto for a qualidade da amostra que chega ao laboratório, o que justifica o estudo dos fatores que afetam a amostragem do leite.

# A pessoa responsável pela amostragem.

A primeira dificuldade está em definir a pessoa responsável pela amostragem do leite. Em amostragens associadas ao controle leiteiro do rebanho, onde o leite de cada vaca em lactação é amostrado para fins de manejo, geralmente o próprio responsável pela ordenha pode ser treinado e geralmente exerce bem esta atividade.

<sup>\*</sup> DÜRR JW, FONTANELI RS, MORO DV (2001). Determinação laboratorial dos componentes do leite. 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.

As dificuldades aumentam em rebanhos grandes, com três ordenhas diárias, onde mais de uma equipe de ordenha tem que se envolver na amostragem. Nesses casos, e nos rebanhos com controle oficial das associações de raça, a única saída é trabalhar com um controlador que não faça parte da equipe de ordenha.

A amostragem do leite de tanques refrigeradores, contudo, constitui-se no grande desafio para os programas de monitoramento da qualidade do leite cru. Na maioria dos países, o responsável pela amostragem é o próprio transportador, o qual assume a responsabilidade pela qualidade do leite assim que o leite é transferido para o caminhão-tanque (excetuando-se problemas que não podem ser avaliados no momento da amostragem, como resíduos de antibióticos, por exemplo). No Brasil, esta prática esbarra em uma série de problemas: devido à pequena escala de produção, um mesmo transportador tem que recolher o leite de até cem (100) rebanhos em um mesmo dia, o que dificulta em muito a aplicação de uma metodologia de amostragem adequada. O nível cultural dos transportadores em muitas regiões, compromete inclusive a sua consciência quanto à importância da qualidade do leite, e conseqüentemente gera resistências à incorporação das práticas de amostragem recomendadas na rotina de coleta do leite. Os próprios caminhões-tanque fabricados no país não possuem artefatos automatizados para a amostragem nem compartimentos adequados para o transporte refrigerado das amostras.

De qualquer forma, um programa de qualidade do leite deve investir no treinamento e no acompanhamento permanente dos responsáveis pela amostragem do leite, sob pena de ver comprometido todo o esforço empreendido no planejamento, na implantação e na condução do programa.

### A homogeneização do leite.

Em função do tamanho das partículas e de suas propriedades químicas, os componentes do leite apresentam-se como uma mistura heterogênea em água: as micelas de caseína, que constituem a principal proteína do leite, encontram-se em suspensão coloidal na água; a lactose, as proteínas hidrossolúveis, os sais minerais e as vitaminas encontram-se dissolvidas na água; e os glóbulos de gordura e as vitaminas lipossolúveis encontram-se em suspensão na água. Isto faz com que o leite não seja um líquido uniforme, especialmente quando armazenado a baixas temperaturas e sem um sistema de homogeneização eficiente.

Por estarem suspensos na água e por apresentarem uma densidade inferior a da água, os glóbulos de gordura irão concentrar-se na camada superior da massa de leite resfriado, sendo necessário homogeneizar constantemente o leite para se evitar a formação de uma camada espessa de gordura que dificilmente será rompida manualmente. Assim sendo, fica evidente a importância da homogeneização do leite refrigerado antes de se proceder a amostragem do mesmo com a finalidade de se determinar a sua composição. Em estudo realizado por Favreto (2001), o leite de cinco vacas foi coletado e refrigerado separadamente por 24 horas, procedendo-se então a amostragem das porções inferior e superior da massa de leite antes da homogeneização, similarmente ao que ocorre na amostragem de tanques refrigeradores a granel quando a amostra é obtida pela torneira de esgotamento ou quando retirada da camada superior com o auxílio de uma concha. A Figura 1 mostra as diferenças no teor de gordura do mesmo leite antes e depois da homogeneização, tendo-se por referência a composição do leite logo após a ordenha.

Os demais componentes do leite não são tão afetados pela falta de homogeneização do leite quanto a gordura, o que torna este componente o principal indicador de problemas de amostragem do leite. Recomenda-se que quaisquer resultados de análise com teores de gordura abaixo de 2% ou acima de 5% (rebanhos cuja base genética é a raça Holandesa) devam ser descartados e repetidos.

# Variação ao longo da ordenha.

Outro fato bastante conhecido que afeta a amostragem do leite de vacas individuais é que o primeiro leite removido do úbere contém muito menos gordura (1 a 2%) do que o leite removido ao

término do processo de ordenha (7 a 9%). Os glóbulos de gordura podem agregar-se nos alvéolos, o que retarda a sua passagem para o teto, enquanto que a porção fluida passa mais prontamente. Isto implica dizer que a avaliação da composição do leite produzido por uma vaca deve ser baseada em amostras retiradas após a ordenha completa da vaca ou através de amostradores acoplados ao conjunto de ordenha que coletem alíquotas de leite das várias fases da ordenha.

Muitos produtores também ignoram ou esquecem o fato de que a composição do leite varia significativamente entre ordenhas realizadas no mesmo dia, principalmente em função do intervalo entre ordenhas não ser uniforme para todas as vacas, o que torna necessário compor amostras com iguais alíquotas das 2 ou 3 ordenhas realizadas ao longo de 24 horas para que se obtenha amostras representativas da composição do leite de cada vaca.

É importante salientar que a amostragem do leite de animais individuais não deve alterar muito a rotina de ordenha do rebanho, o que pode provocar descargas de adrenalina nas vacas e a consequente inibição do estímulo da ocitocina, fenômeno conhecido por "retenção do leite". O leite retido no úbere é justamente o mais rico em gordura, fazendo com que a análise da composição do leite obtido de uma vaca estressada seja de pouco valor para se avaliar o seu estado nutricional.

### Temperatura de armazenamento da amostra.

O leite é um alimento altamente perecível e a degradação microbiológica do mesmo começa a ocorrer a partir do momento em que se procede a ordenha. Todo o esforço que se faz para que o leite seja obtido com o máximo de higiene para reduzir a contaminação e conservado a baixas temperaturas a fim de inibir o crescimento dos microrganismos que degradam o leite é igualmente válido para as amostras de leite enviadas para análise laboratorial.

Como forma de se prevenir a ação dos microrganismos sobre as amostras de leite, o uso de conservantes químicos se tornou rotina n maioria dos países, especialmente nas amostras destinadas à análise de composição e contagem de células somáticas. Os conservantes mais utilizados são o dicromato de potássio, o qual possui uma alta toxicidade e dificulta o tratamento dos resíduos de leite, e o Bronopol, de toxicidade baixa mas com semelhante dificuldade no tratamento de resíduos. A eficácia destes conservantes, contudo, é dependente da temperatura a que as amostras de leite são submetidas desde a coleta até a chegada ao laboratório. Muitas amostras, mesmo contendo conservante, chegam ao laboratório coaguladas, especialmente em épocas de altas temperaturas. Em função do exposto acima, recomenda-se que todas as amostras de leite (mesmo com conservante) permaneçam refrigeradas (4°C) desde a coleta até a chegada ao laboratório através do uso de caixas térmicas apropriadas.

# Tempo de armazenagem.

Outro fator fundamental é a idade da amostra a ser analisada. A medida que o tempo passa, o leite começa a ser degradado e alterações significativas na sua composição ocorrem. O componente que mais é alterado é a lactose, em função do seu desdobramento em ácido láctico pela ação dos microrganismos mesófilos.

Quando a determinação da composição do leite é realizada pelo método do infravermelho, o ácido láctico presente na amostra é interpretado como proteína, o que causa um erro na determinação da proteína total. A Figura 2 mostra o que ocorre com os teores de lactose e proteína total, medidos no infravermelho, a medida em que o tempo passa.

O efeito do tempo de armazenagem sobre a qualidade da amostra é particularmente preocupante em amostras de tanque refrigerador, uma vez que quando a coleta é realizada o leite já está armazenado de 24 a 48 horas, e já pode ter sofrido degradação microbiana. O efeito da idade da amostra sobre a composição do leite foi analisado por Ng-Kwai-Hang e colaboradores (1984).

#### Métodos de análise.

O monitoramento da composição do leite é uma ferramenta de manejo imprescindível para rebanhos leiteiros especializados que queiram fazer uso dos avanços mais recentes em nutrição e metabolismo de ruminantes. A Tabela 1 descreve as principais metodologias de análise disponíveis para a determinação de componentes do leite. Entre as metodologias apresentadas, a determinação da composição através da tecnologia do infravermelho é a mais rápida, barata e confiável para o acompanhamento rotineiro do leite. O que parece não ser totalmente satisfatório é a determinação da proteína total, uma vez que o que é realmente determinado são os componentes nitrogenados totais, onde incluem-se a caseína, as proteínas do soro e a porção chamada de nitrogênio não protéico. A medida em que se altera a dieta e o metabolismo da vaca, as diferentes frações que compõe a proteína total são alteradas também, e o conhecimento desta dinâmica é justamente o dado que interessa ao nutricionista.

Do ponto de vista do valor industrial do leite, o teor de caseína é a informação mais relevante para a estimativa do rendimento na fabricação de lácteos como o queijo. O percentual de caseína no leite, contudo, não pode ser obtido pelo método do infravermelho, o que inviabiliza sua determinação em grande escala.

A porção da proteína total que conta hoje com um método rápido de determinação é a uréia, principal componente do nitrogênio não protéico do leite. O monitoramento do teor de uréia no leite vem ganhando muita atenção pela sua relação com o metabolismo do nitrogênio e suas consequências no desempenho reprodutivo das vacas leiteiras.

## Análises complementares.

Muitas vezes a interpretação de análises da composição do leite depende de outras características do leite que podem afetar tanto o processo de secreção como a integridade do leite já ordenhado. Além da óbvia alteração da composição do leite em função da adição de água, do desnate, da adulteração com substâncias reconstituintes ou redutoras, e da degradação pela ação de microrganismos, a análise laboratorial do leite que melhor complementa a determinação dos componentes é a contagem de células somáticas no leite (CCS).

A CCS é realizada rotineiramente nas mesmas amostras de leite destinadas à determinação dos componentes, e constitui-se basicamente de células de origem leucocitária que estão presentes no leite. Aumentos no número de células presentes no leite indicam que a glândula mamária está passando por um processo inflamatório de maior ou menor intensidade. Assim sendo, a CCS no leite é um indicador da ocorrência e da prevalência de mastite nos rebanhos leiteiros.

Os efeitos da mastite sobre a composição do leite estão bem descritas na literatura (Schultz, 1977). A inflamação da glândula mamária reduz a síntese de gordura, caseína e lactose, reduz os teores médios de cálcio e potássio, aumenta a passagem do sangue para o leite das seroproteínas, das albuminas, do sódio e do cloro. De todas estas mudanças, facilmente passa despercebida a mudança qualitativa que a mastite opera nas proteínas do leite: a redução da caseína é compensada pelo aumento nas proteínas provenientes do sangue, fazendo com que a alteração no teor de proteína total seja mínimo. Em resumo, análises da composição do leite devem ser interpretadas com cuidado sempre que o leite apresentar alta CCS.

# Referências bibliográficas.

Dürr JW, Fontaneli RS, Burchard JF (2000). Fatores que afetam a composição do leite. In: *Curso de sistemas de produção para gado de leite baseado em pastagens sob plantio direto*, Passo Fundo. Anais. Embrapa-Trigo.

Favreto M (2001). *Amostragem de leite cru para programas de qualidade do leite*. Monografia de Especialização. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo.

Ng-Kwai-Hang KF, Hayes JF, Moxley JE, Monardes HG (1984). Variability of test-day milk production of somatic cell counts with yield and compositional changes of bovine milk. *Journal of Dairy Science* v. 67, p. 361-366.

Schultz LH (1977). Somatic cell in milk - Physiological aspects and relationship to amount and composition of milk. *Journal of Food Protection* v.40, p.125-131.

Tabela 1. Métodos de determinação laboratorial dos componentes do leite.

Determinação	Método	Princípio
Gordura	Gerber <sup>1</sup>	Baseia-se no ataque seletivo da matéria orgânica (proteínas, lactose e demais substâncias não gordurosas) por meio de ácido sulfúrico, com exceção da gordura, que é separada por centrifugação, auxiliada pelo álcool amílico que modifica a tensão superficial, favorecendo a separação da gordura que é medida volumetricamente. O resultado é expresso em % massa/massa.
Gordura	Röse-Gottlieb, modificado por Mojonnier <sup>2</sup>	O método consiste em determinar a matéria gordurosa do leite, através da extração da gordura por solventes orgânicos, com posterior decantação e evaporação dos solventes. O resultado é expresso em % de gordura (massa/massa).
Nitrogênio total – proteina	Kjeldahl <sup>3</sup>	Baseia-se na determinação do nitrogênio total do leite. Na digestão, a matéria orgânica é hidrolisada pela ação do ácido sulfúrico, onde o carbono é liberado como gás carbônico e o hidrogênio na forma de água. O nitrogênio é transformado em NH <sub>3</sub> (amônia) e fixado sob a forma de sal amoniacal (sulfato de amônia). A mistura catalítica, o sulfato de cobre, age como catalisador oxidante e o sulfato de potássio aumenta a temperatura de ebulição. Na destilação, a solução de hidróxido de sódio libera a amônia, que é destilada e recebida em solução de ácido bórico de concentração conhecida com indicador adequado e posterior titulação com solução padronizada de ácido.
Caseína	Kjeldahl <sup>4</sup>	O método consiste na precipitação da caseína em pH 4,6 com solução de ácido acético. O precipitado é filtrado e transferido para um balão de Kjeldahl e determinada a quantidade de caseína neste resíduo, conforme a técnica de determinação de nitrogênio total. O resultado é expresso em % de caseína massa/volume.
Nitrogênio não- proteíco	Kjeldahl <sup>s</sup>	A proteína do leite é precipitada pela adição de solução de ácido tricloacético (TCA). A remoção do precipitado é através de filtração. No filtrado fica retido o nitrogênio não-protéico do leite, que posteriormente é determinado pelo método de nitrogênio total. O nitrogênio não-protéico é expresso em proteína equivalente (fator 6,38) % massa/massa
Úreia no leite (MUN)	Enzimático <sup>6</sup>	O instrumento ChemSpec, baseia-se na reação de Berthelot. A determinação ocorre em duas etapas. Primeiramente a amostra é coletada e transportada para um reservatório automaticamente e mantida a 40°C, onde é adicionada a enzima urease que durante a reação libera amônia e dióxido de carbono. Depois de um tempo de incubação, a adição de uma solução de corante e um ativador, forma um complexo de coloração verde. A intensidade de cor é proporcional à concentração de amônia, a qual é determinada espectrofotometricamente. Após a leitura, é adicionado um catalisador no corante para acelerar a reação, intensificando o desenvolvimento da cor verde, melhorando a sensibilidade do método. O uso de instrumento de alta precisão dispensa a utilização de diluições. O leite é simplesmente diluído com os reagentes usados, para melhorar as

		leituras do espectro, prevenindo as interferências de outros componentes do leite. Os resultados são expressos mg/dl.
Nitrogênio proteíco – proteína verdadeira	Kjeldahl <sup>7</sup>	O nitrogênio total e o nitrogênio não-protéico contidos no leite, são determinados separadamente. A diferença entre as duas determinações é o resultado do nitrogênio protéico contido no leite. O resultado é expresso em % massa/massa, multiplicado pelo fator 6,38.
Lactose	HPLC <sup>8</sup>	O método consiste na determinação da lactose do leite, através da cromatografia líquida de alta eficiência, utilizando detector de índice de refração após separação em coluna de troca iônica. Na amostra é adicionada uma mistura de acetato de zinco e ácido fosfotungstênico, para precipitar a gordura e a proteína. Após, a amostra é filtrada e injetada no cromatógrafo. A concentração de lactose na amostra é calculada a partir das áreas integradas normalizadas, utilizando o método padrão interno.
Lactose	Gravimétrico <sup>9</sup>	O método de Lane-Eynon, baseia-se na redução de um volume conhecido de reagente de Fehling (cobre alcalino em ácido cuproso). O ponto final é indicado pelo azul de metileno reduzido por um pequeno excesso de açúcar redutor. O resultado é expresso % glicose (massa/volume).
Sais minerais (Ca, Mg, K, Na e Cu)	Espectrofometria de absorção atômica <sup>10</sup>	Baseia-se na precipitação da proteína do leite, usando ácido tricloacético (TCA), com posterior filtração. O filtrado é então analisado em espectrofometria de absorção atômica, utilizando curva padrão para cada componente analisado.
	Infravermelho <sup>11</sup>	Depois da homogeinização das amostras de leite, são medidas com espectofotômetro infravermelho na quantidade de radiação absorvida por:
Gordura, proteína,		<ul> <li>Grupos carbonila das ligações ésteres dos glicerídios em aproximadamente 5,7 μm (referenciado para o filtro A) e/ou ligações dos grupos CH em aproximadamente 3,5 μm (referenciado ao filtro B), para as determinações dos teores de gordura.</li> </ul>
lactose		<ul> <li>O grupo secundário amina das ligações peptídicas em aproximadamente 6,5 μm, para as determinações dos teores de proteína total.</li> </ul>
		<ul> <li>Os grupos hidroxila da lactose em aproximadamente 9,6 μm, para as determinações dos teores de lactose.</li> <li>A determinação das concentrações de cada componente é medido pela referência e pela quantidade de luz infravermelho absorvida. Os resultados são expressos em % massa/massa.</li> <li>Brasília (1981): <sup>2</sup>ΔΟΔC Official Method 989 05 (1992): <sup>3</sup>ΔΟΔC</li> </ul>

<sup>1</sup>Lanara – métodos físicos e químicos, Brasília (1981); <sup>2</sup>AOAC Official Method 989.05 (1992); <sup>3</sup>AOAC Official Method 991.20 (1994); <sup>4</sup>AOAC Official Method 927.03 (1994); <sup>5</sup>AOAC Official Method 991.21 (1994); <sup>6</sup>AOAC Official Method 941.04 (1994); <sup>7</sup>AOAC Official Method 991.23 (1994); <sup>8</sup>FIL-IDF Canadá (1991); <sup>9</sup>AOAC Official Method 930.28 (1994); <sup>10</sup>Analytical Methods for Atomic Absorption Spectrometry, Perkin Elmer (1994); <sup>11</sup>AOAC Official Method 972.19 (1972).

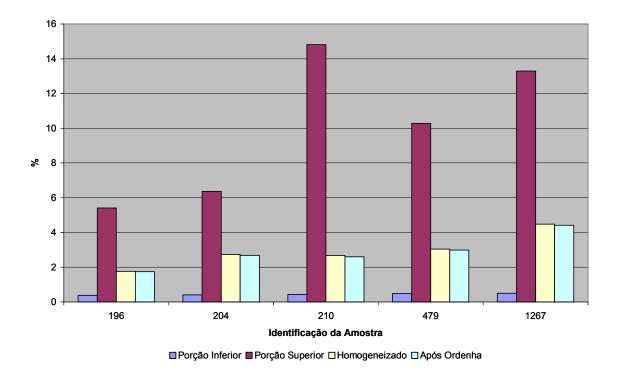


Figura 1. Efeito da ausência de homogeneização do leite refrigerado sobre o teor de gordura no leite (Favreto, 2001).

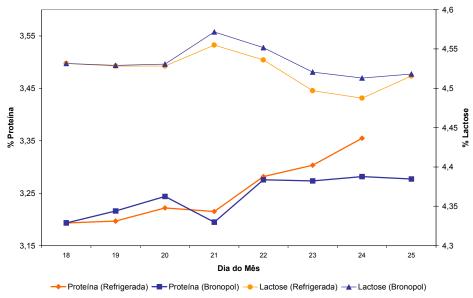


Figura 2. Efeito do tempo de armazenamento sobre os teores de lactose e proteína total no leite, em amostras refrigeradas com e sem conservante, determinados pelo método do infravermelho (Favreto, 2001).

# O LEITE COMO FERRAMENTA DO MONITORAMENTO NUTRICIONAL\*

José Roberto Peres

Engenheiro. Agrônomo M.Sc. em Ciência Animal e Pastagens QGN – Carbonor. São Paulo (Brasil) jrperes@uol.com.br

# INTRODUÇÃO

Desafios crescentes vêm sendo impostos ao produtor de leite nacional. A busca por eficiência é essencial para permanência na atividade. A produção eficiente e econômica de leite passa invariavelmente pela nutrição.

Além de ser o principal fator determinante do nível de produção de leite, principal fonte de renda de uma fazenda leiteira, a nutrição também influencia as despesas no sentido que estando relacionada também à fertilidade e à saúde, determina o nível de gastos com reprodução e sanidade.

A maior parte da receita obtida numa fazenda leiteira é gasta na alimentação. É importante portanto que este dinheiro seja bem empregado, para que retorne ao produtor na forma de melhor desempenho.

O monitoramento, em qualquer atividade é a ferramenta que permite a identificação dos pontos limitantes e os resultados de eventuais correções. É preciso, antes de mais nada, saber o que ocorre e posteriormente ter parâmetros ou objetivos que possam ser alcançados para que se possa atingir a tão almejada eficiência.

A nutrição pode ser monitorada de diversas formas. O acompanhamento da condição corporal dos animais, por exemplo, é indicativo da adequação nutricional. Existe, porém, uma forma de monitoramento nutricional do rebanho ainda pouco explorada pelo produtor nacional: a composição do leite produzido pelos seus animais.

Nos últimos tempos, muito tem sido discutido sobre a composição e a qualidade do leite. Vários são os artigos em revistas e mesmo palestras e debates em congressos sobre as possibilidades de alteração da composição e qualidade do leite, o que envolve, entre outros fatores, a adequada nutrição dos animais. O enfoque, no entanto, é sempre em relação à produção de leite de maior qualidade nutricional para o consumidor e que tenha maior rendimento para a produção de laticínios pela industria. Este enfoque é de extrema importância já que envolve questões de saúde pública e até mesmo de viabilidade econômica de toda cadeia produtiva. No entanto, sob o ponto de vista do produtor, nem sempre esta busca por qualidade tem refletido em melhor remuneração. Sendo assim, a idéia de discutir a composição do leite como ferramenta de monitoramento nutricional de vacas leiteiras é bastante oportuna pois potencialmente pode trazer benefícios diretos ao produtor, auxiliando na viabilização da atividade. Esta é a visão que será explorada neste texto. É interessante notar, no entanto, que estas questões estão interligadas; animais bem nutridos consequentemente produzem leite de melhor qualidade (mais nutritivo e com maior rendimento industrial).

A tecnologia de análise do leite tem evoluído muito. Hoje as análises podem ser feitas de forma bastante rápida, com precisão e preços satisfatórios. Além disso, novos parâmetros podem ser avaliados, que somados às informações tradicionais aumentam a capacidade de interpretação da situação através da composição do leite. Já são vários os laboratórios nacionais equipados com tecnologia de última geração para análise do leite. Aparelhos de análise por infravermelho, por exemplo, determinam em questão de segundos os teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais,

\_

<sup>\*</sup> PERES JR (2001). O leite como ferramenta do monitoramento nutricional. 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.

e, mais recentemente em alguns laboratórios, o teor de nitrogênio uréico no leite. Todos esse dados, na maioria das vezes considerados inúteis pelo produtor, por não saber fazer uso deles, podem trazer informações valiosas sobre o perfil nutricional dos animais. Isto valoriza os dados gerados pelo controle leiteiro oficial. Somado a isto, algumas análises realizadas regularmente pelos laticínios como a acidez podem somar indícios a estas informações, como será visto mais detalhadamente adiante.

Como as apresentações precedentes já trataram dos aspectos bioquímicos e metabólicos da síntese do leite na vaca, neste texto serão enfatizados aspectos práticos do monitoramento nutricional através da composição do leite. Em outras palavras, que tipo de informações podem ser extraídas deste tipo de dados, seu significado e quais os possíveis ajustes necessários no caso dos valores observados diferirem do desejado. Para tal, cada componente será discutido separadamente.

#### **GORDURA**

A gordura certamente é o componente do leite que tem a maior amplitude de variação. Dependendo da dieta fornecida aos animais, a gordura pode variar entre 2 e 3 unidades percentuais.

Há também um componente genético na porcentagem de sólidos do leite produzido por diferentes animais. A Tabela 1 apresenta os teores médios, nos últimos 15 anos, de gordura e proteína no leite das principais raças, nos Estados Unidos. A partir destes valores pode-se considerar "normal" uma variação de cerca de 0,2 pontos percentuais para a gordura (3,4 a 3,8 para o gado Holandês, por exemplo) e de 0,1 pontos percentuais para o teor de proteína (de 3,1 a 3,3 para o gado Holandês) Além da raça outros fatores como estágio de lactação, estação do ano e saúde do animal podem afetar a composição do leite.

Relação % de gordura % de proteína Raça proteína/gordura 3,20 3,64 Holandesa 0,88 4,73 3,78 0,80 Jersey Pardo-Suíco 4,02 3,56 0,89

Tabela 1: Teores médios de gordura e proteína para algumas raças nos EUA.

Observe que algumas raças naturalmente possuem maiores teores de sólidos, com destaque para a raça Jersey, e que a proporção destes dois componentes também é distinta nas diferentes raças. Ao utilizar estes dados no monitoramento nutricional do rebanho estas questões devem ser consideradas.

Partindo destes valores como referência, como as informações do controle leiteiro poderiam então ser utilizadas no acompanhamento nutricional do rebanho?

Dado um conjunto de resultados de análise do leite de um determinado rebanho, o primeiro valor a se observar seria o teor de gordura do leite, já que este é o mais variável. Os seguintes passos podem ser utilizados como referência para a interpretação dos dados:

- 1. Verifique se a média dos teores de gordura está dentro do padrão da raça  $(3.6 \pm 0.2\%$  para o gado Holandês, por exemplo). Valores médios 0.3% abaixo da média da raça podem indicar problemas.
  - 1.1. Antes de admitir um problema, confira o estágio de lactação do rebanho. O teor de gordura tende a ser menor no início e aumentar conforme se aproxima o final da lactação. Como exemplo, se houve uma concentração de partos e a maioria das vacas têm menos de 120 dias em lactação, teores médios de 3,3 a 3,5% podem não representar problema. Se estes mesmos valores ocorrerem num rebanho em final de lactação a nutrição e o manejo devem ser investigados.

- 1.2.Da mesma forma, também é comum a diminuição dos teores de gordura na primavera e no verão. A mudança dos animais para pastos novos, com pouca fibra e o estresse calórico podem resultar em menor ingestão de fibra. Neste caso é preciso fazer correções para evitar que esta situação se mantenha por muito tempo.
- 2. Independente da média, verifique se os valores individuais estão dentro do padrão.
  - 2.1. Como referência pode-se utilizar a média de gordura do próprio rebanho.
  - 2.1.1. <u>Pode ser considerado baixo o teor de gordura individual que estiver 1 ponto percentual abaixo da média do rebanho</u> (por exemplo, para um rebanho Holandês, cuja média de gordura no leite seja de 3,6%, um animal com teor de 2,6% ou inferior seria considerado anormal). <u>Numa situação ideal, nenhum animal deveria apresentar esta condição.</u>
- 3. Verifique se há inversão dos valores de proteína e gordura (proteína maior que a gordura).
  - 3.1. Se os dados de proteína forem referentes à proteína total:
    - 3.1.1. <u>Podem ser consideradas "inversões"</u>, valores de gordura 0,4 pontos percentuais menores que os valores de proteína total (por exemplo, teor de gordura menor que 2,8% associado a teor de proteína total de 3,2%). <u>Níveis de até 10% de inversão proteína/gordura no rebanho em lactação podem ser considerados normais</u>.
  - 3.2.Se os dados de proteína forem expressos em proteína verdadeira (sem inclusão do nitrogênio não protéico):
    - 3.2.1. Podem ser consideradas "inversões", valores de gordura 0,2 pontos percentuais menores que os valores de proteína verdadeira (por exemplo, teor de gordura menor que 2,8% associado a teor de proteína verdadeira igual a 3,0%). Da mesma forma que na situação anterior, considera-se normal até 10% das vacas em lactação com este tipo de inversão.

Admitindo que as avaliações acima sugeridas foram feitas e que constatou-se que há um problema no rebanho relacionado a baixos teores de gordura no leite e/ou inversão dos valores de gordura e proteína, é interessante aprofundar a investigação na tentativa de identificar se a ocorrência destes desvios estão correlacionados a alguma categoria animal do rebanho. Para isso é preciso verificar:

- 1. Se a ocorrência é concentrada nos animais em início (menos de 60 dias) de lactação: Estas vacas estão mais sujeitas a estas ocorrências em função da transição das dietas de pré- para o pós-parto. Caso isto seja verdadeiro, é preciso adequar as dietas pré parto de maneira que as vacas iniciem a lactação mais adaptadas ao tipo de dieta que irão consumir após o parto. Em rebanhos onde o concentrado é fornecido separado do volumoso deve ser feito um aumento gradual do concentrado, para evitar distúrbios ruminais.
- 2. Se a ocorrência é concentrada em animais de um determinado número de lactações: Vacas de primeira cria podem apresentar este tipo de problema caso não tenham total acesso às dietas, devido a competição excessiva por comida no cocho ou então por eventuais diferenças na formulação das dietas. O oposto também é possível, por exemplo, vacas adultas dominantes que consomem mais concentrado que a média, o que pode ocasionar distúrbios ruminais. Para solucionar este tipo de problema seria necessário isolar os animais de primeira cria num lote e impedir a seleção de alimentos (fornecimento de ração completa) ou o acesso de uma vaca ao concentrado destinado a outra (no caso de fornecimento do concentrado separadamente).
- 3. Se a ocorrência é concentrada em um determinado lote de animais dentro do rebanho: Não seria fora do comum se estes eventos ocorressem no lote de maior produção. As vacas deste lote normalmente estão recebendo a dieta mais crítica (com maior proporção de concentrado; menor proporção de fibra) sendo portanto constantemente desafiadas. Se este for

<u>o caso, reformule a dieta deste lote considerando a possibilidade de inclusão de mais fibra na dieta, ou adicione tamponantes (bicarbonato de sódio e óxido de magnésio).</u>

Como pode ser visto, muitos dos problemas acima mencionados estão relacionados a questões de manejo nutricional e não unicamente de balanceamento de dieta. Havendo ou não tais tendências (caso a distribuição dos casos seja generalizada), outros fatores devem ser considerados.

Antes de discutir estes fatores, é importante lembrar que, colocando de maneira bem simples, o teor de gordura do leite é, em parte, função da quantidade de precursores (acetato e beta-hidroxibutirato) disponíveis à glândula mamária para sintetizá-la (síntese *de novo*) enquanto outra parte é originada de ácidos graxos oriundos diretamente da dieta e/ou mobilizados da gordura corporal. Estes precursores para a síntese da gordura, por sua vez, são originados na fermentação dos alimentos no rúmen, em especial da fermentação da fibra.

A teoria, ainda hoje mais aceita, é que a porcentagem de gordura do leite é influenciada positivamente por maiores porcentagens molares de ácidos acético e butírico no rúmen, enquanto que níveis elevados de ácido propiônico teriam efeito depressor no teor de gordura, especialmente quando ultrapassam 25% do total molar de ácidos originados na fermentação, ou quando a proporção acetato/propionato fica abaixo de 2,2:1.

De maneira geral, fatores relacionados à dieta que promovam a produção de ácido propiônico e, portanto, alterem a relação acetato/propionato tem profundo efeito depressor na porcentagem de gordura do leite. Atualmente uma nova teoria, a dos ácidos graxos "trans", complementa e até mesmo contesta estes princípios mas não será aqui discutida, já que a síntese do leite foi tema de palestras anteriores neste mesmo seminário. De qualquer maneira é preciso ter em mente que certas características das dietas que alteram a fermentação ruminal, afetam o teor de gordura do leite. Estas características ou fatores serão discutidos a seguir. A Tabela 2, apresentada abaixo, será utilizada para ilustrar estas situações.

# Fatores que afetam o teor de gordura no leite.

#### 1. Relação volumoso: concentrado.

Trabalhos realizados na década de 1930 já demonstravam o efeito do excesso de concentrados na redução do teor de gordura do leite. A recomendação genérica, bastante simplista, preconiza que o teor de concentrados na matéria seca da dieta não deveria ultrapassar 60%. No exemplo da Tabela 2 é possível observar que a partir deste nível, o teor de fibra da dieta é diminuído e, conseqüentemente, o tempo de ruminação, o que acarreta menor produção de saliva e seus tamponantes, redução do pH ruminal (abaixo de 6,0) e da relação acetato/propionato (abaixo de 2,2) a níveis considerados propícios à queda no teor de gordura do leite.

Infelizmente, esta relação 40:60 entre volumosos e concentrados deve ser utilizada somente como guia pois vários outros fatores discutidos a seguir influem nos efeitos destas proporções.

#### 2. Fibra efetiva.

Como pode ser observado na Tabela 2, a manutenção do ambiente ruminal e de proporções adequadas entre os ácidos graxos voláteis produzidos por fermentação, dependem do fornecimento de suficiente quantidade de fibra na dieta. A fibra é responsável pelo estímulo à ruminação, que produz saliva e tamponantes, além de sua fermentação originar preferencialmente ácidos acético e butírico. O limite mínimo de 40% de volumosos na dieta foi determinado em pesquisas norte-americanas, com dietas baseadas em grande parte no uso de alfafa (silagem ou feno). Nas nossas condições isto é pouco freqüente e é preciso avaliar uma série de outros fatores em conjunto. Ao mesmo tempo em que nossas forragens naturalmente têm maior teor de fibra, elas exigem maior suplementação de concentrados, especialmente quando os animais são de alta produção.

Dependendo da formulação da dieta esta condição coloca os animais em situações limite, onde a busca por maior produção leva a problemas metabólicos e diminuição do teor de gordura do leite.

Fibra em excesso nas dietas reduz a ingestão de matéria seca devido ao mais rápido enchimento do rúmen, associado a menor taxa de passagem, o que limita a produção de leite. Por outro lado, a falta de fibra na dieta tem conseqüências que vão além do menor teor de gordura no leite. É errôneo pensar que a ingestão de matéria seca será sempre maximizada se dietas com altos níveis de energia e baixos teores de fibra forem oferecidas. A dificuldade encontra-se, portanto, em identificar qual seria o conjunto de alimentos, dentre os que estiverem disponíveis, que permita o melhor balanceamento.

Tabela 2: Fatores da dieta e respostas ruminais.

Consumo	de MS	Fibi	ra na di	eta	Ruminação	Tampão	$pH^1$	Ácido	s graxos volát	teis
Volumoso	Ração	NDF	ADF	FB	Kummaçao	salivar	rúmen	Acetato	Propionato	A:P <sup>2</sup>
%		%	6 de MS	S	min/dia	kg/dia		% molar		
100	0	65	41	34	960	2,36	7,0	70	18	3,9
80	20	55	34	28	940	2,31	6,6	67	20	3,4
60	40	45	27	22	900	2,27	6,2	64	22	2,9
40	60	34	20	16	820	2,14	5,8	58	28	2,1
20	80	24	13	10	660	1,95	5,4	48	34	1,4
0	100	14	6	5	340	1,55	5,0	36	45	0,8

Adaptado de Bachman, K.C. (1992. ¹ Os valores em destaque representam a faixa de pH ruminal ótima para digestão da celulose. ² Os valores em destaque representam as relações molares entre acetato e propionato nas quais ocorre severa depressão no teor de gordura do leite.

Neste campo, a determinação da "efetividade" da fibra da dieta é muito importante. Este conceito é um pouco subjetivo. Fibra efetiva seria aquela que estimula a ruminação. Sua efetividade é geralmente associada ao tamanho das partículas. Forragens excessivamente moídas, mesmo que com alto teor de fibras (FDA e FDN), não têm "efetividade". Existe inclusive uma peneira desenvolvida pela Universidade do Estado da Pennsylvania (*Penn State Shaker Box*) que determina a distribuição dos diferentes tamanhos de partículas na dieta, que pode ser utilizada como parâmetro na avaliação de dietas e forragens.

Existem também alguns valores a serem observados na dieta, que tentam garantir um mínimo de fibra (efetiva) e o bom funcionamento ruminal. Sendo assim, ao formular dietas para vacas leiteiras e, mais especialmente, ao identificar baixos teores de gordura no leite, procure observar os seguintes pontos:

- 2.1. As dietas devem conter um mínimo de 28% de Fibra Detergente Neutro (FDN), sendo que 75% deste total deve ser oriundo de forragem para garantir um mínimo de fibra efetiva. Quando utilizar grande proporção de subprodutos fibrosos, que normalmente tem baixa efetividade de fibra, é conveniente aumentar este valor para 30-32%.
  - 2.2. As dietas devem conter um mínimo de 18% de Fibra Detergente Ácido (FDA).
- 2.3. As partículas dos alimentos devem ter, um mínimo de 0,6 a 0,8 cm de comprimento sendo que pelo menos 20% devem ser maiores que 4 cm.
- 2.4 Uma vez que a efetividade da fibra é de difícil quantificação, é aconselhável acompanhar o padrão de ruminação dos animais para identificar a adequação da dieta neste quesito. Em dietas bem formuladas, 40 a 50% das vacas que estejam deitadas e não estejam dormindo ou comendo, devem estar ruminando a qualquer momento. Esta avaliação deve ser utilizada como referência adicional pois não garante sozinha o bom funcionamento ruminal.

É interessante destacar que o fornecimento de grande quantidade de fibras excessivamente longas também não garante o bom funcionamento ruminal. Isto muitas vezes ocorre porque as vacas tendem a selecionar os alimentos evitando as fibras. No papel, a dieta pode parecer perfeita, mas na realidade as vacas não consomem o que foi programado. Ironicamente fenos ou silagens picadas de forma muito grosseira podem ser a causa dos problemas (refugo das palhas e sabugos).

#### 3. Tipo de concentrado e seu processamento.

O tipo de concentrado e o processamento pelo qual ele passa, também influem na sua fermentação ruminal, em especial na sua taxa de fermentação, o que consequentemente reflete no teor de gordura do leite. Em outras palavras, mesmo considerando dietas com níveis adequados de fibra, é preciso avaliar o tipo de concentrado e seu processamento.

Os carboidratos dos alimentos podem ser divididos em duas frações: estruturais (FDN) e não estruturais (principalmente amido, açúcares e pectina). Os carboidratos não estruturais (CNE), de modo geral, possuem alta taxa de fermentação e produzem maior proporção de ácido propiônico e láctico (com exceção da pectina), que reduzem o pH ruminal e a gordura do leite. Sendo assim, quanto maior o teor de CNE de um alimento, maior seu potencial em diminuir o teor de gordura do leite. Para complicar, mesmo entre os carboidratos não estruturais existem diferenças na velocidade de degradação em função do tipo de carboidrato predominante e do processamento. Também, processos como a moagem fina, a ensilagem de grãos úmidos, a peletização, a extrusão, a floculação e a laminação, aumentam a digestão ruminal do amido. Sendo assim, recomenda-se que se observe o nível de carboidrato não estrutural em função destes fatores. Algumas diretrizes básicas são:

- 3.1 Limite o nível de carboidratos não estruturais entre 33 e 36% da matéria seca da dieta se o concentrado da dieta for composto basicamente de grãos de cevada, aveia, milho de alta umidade, milho floculado ou finamente moído.
- 3.2 Este nível pode ser elevado para 37 a 39% se a maior parte da dieta for composta por forragens de alta qualidade e em dietas à base de silagem de milho com inclusão de subprodutos fibrosos (polpa de laranja, casca de soja, resíduo de cervejaria, farelo de glúten de milho, caroço de algodão e farelo de trigo)
- 3.3 Níveis ainda maiores, entre 40 e 42% podem ser atingidos se o milho da ração for moído grosseiramente (quirera grossa) e a dieta use altas quantidades de subprodutos fibrosos.

## 4. Fornecimento de gordura.

O fornecimento de gordura na dieta, de maneira geral, tende a deprimir os teores de gordura e proteína no leite, como pode ser observado na Tabela 3. Isto deve ser considerado ao se avaliar o nível de gordura no leite de determinados rebanhos.

Tabela 3: Efeito de diferentes fontes de gordura na produção e composição do leite.

Fonte	Quantidade	Prod. de leite	Gordura	Proteína	Lactose
Tonte	% na MS	kg/dia		%	
Sebo hidrogenado	2,7	+ 2,3	- 0,37	- 0,16	- 0,0,1
Semente oleaginosa (soja)	2,7	+ 2,2	- 0,86	- 0,34	+ 0,06
Ácidos graxos livres	3,4	+ 1,5	+ 0,10	- 0,09	+ 0,04
Triglicerídeos livres	3,4	+ 1,8	- 0,27	- 0,24	+ 0,02
Triglicerídeos protegidos	4,7	+ 1,7	- 0,40	- 0,24	- 0,04

Adaptado de Sutton (1989).

A inclusão de gordura (5 a 7% da matéria seca) nas dietas é bastante comum, especialmente na forma de sementes oleaginosas, como os grãos de soja e o caroço de algodão. Esta prática muitas vezes é economicamente interessante por ser uma forma de aumentar a densidade energética das dietas, especialmente de animais de alta produção. Isto na maioria dos casos resulta em aumento do volume de produção, porém com frequente (e variável) prejuízo à composição do leite.

A magnitude do efeito depressor da gordura nos componentes do leite é função principalmente da quantidade e do tipo de gordura utilizada. As gorduras poliinsaturadas ou ricas em ácidos graxos

do tipo "trans" (óleos vegetais de milho, soja, girassol e canola e também o óleo de peixe) são as que têm maior efeito depressor no teor de gordura do leite. As gorduras saturadas (sebo hidrogenado) e protegidas têm menor efeito.

O excesso de gordura atua no rúmen diminuindo a digestibilidade da fibra (parece ser tóxica às bactérias que degradam a celulose), alterando assim a proporção de acetato e propionato e facilitando o acúmulo de ácidos graxos do tipo "trans", especialmente se à gordura forem associados altos níveis de carboidratos não estruturais na dieta.

Este, portanto, é outro ponto a ser verificado em casos de depressão no teor de gordura do leite. Algumas recomendações básicas para evitar esta depressão são as seguintes:

- 4.1 A primeira suplementação de gordura (aumentar o teor de gordura da dieta de 2-3% para 4-5% na MS) deve ser feita na forma de sementes oleaginosas. O caroço de algodão deve ser fornecido inteiro e os grãos de soja devem ser somente quebrados em 3 ou 4 pedaços para que a liberação da gordura no rúmen seja mais lenta, diminuindo seu efeito negativo.
- 4.2 Para que o nível de gordura da dieta ultrapasse os 4-5%, podendo chegar, no máximo, a 6-7%, é recomendada a utilização de gorduras protegidas (sais de cálcio), que são inertes no rúmen.

#### 5. Aditivos.

Praticamente todos os fatores discutidos até o momento, de alguma forma interferem no teor de gordura do leite através de sua influência na fermentação ruminal. Não é diferente com os aditivos.

Um primeiro grupo de aditivos, de grande valia na manutenção do teor de gordura do leite, são os tamponantes (bicarbonato de sódio) e alcalinizantes (óxido de magnésio). Estes produtos são recomendados especialmente em dietas com alta inclusão de concentrados (carboidratos não estruturais) ou quando a silagem de milho for o volumoso exclusivo da dieta. Algumas referências também recomendam sua inclusão em dietas à base de cana-de-açúcar que, embora possua um elevado teor de fibras, por outro lado possui elevado nível de carboidratos não estruturais na forma de açúcares de rápida fermentação ruminal. Dietas a base de pastagens, silagens ou fenos de capins tropicais e leguminosas (alfafa) têm resposta variável à adição de tamponantes.

O princípio do tamponamento ruminal é evitar a queda do pH mantendo o ambiente adequado à digestão da fibra.

Outro grupo de aditivos de uso crescente são os ionóforos. Os principais são a monensina sódica (nome comercial Rumensin®) e a lasalocida (nome comercial Taurotec®). Eles atuam alterando o padrão de fermentação ruminal, aumentando sua eficiência por eliminar as bactérias que produzem metano e gás carbônico. Ocorre que as bactérias selecionadas são preferencialmente produtoras de ácido propiônico, em detrimento ao ácido acético, precursor da gordura do leite. Com isto, o fornecimento destes aditivos tende a diminuir o percentual de gordura do leite, muito embora sua produção total (quilos de gordura) normalmente seja mantida através de eventuais ganhos em produção.

As seguintes são recomendações básicas neste tópico:

- 5.1. A ocorrência de baixos teores de gordura no leite é indicativo da necessidade de melhor tamponamento da dieta. A adição de 0,75% de bicarbonato de sódio na matéria seca da dieta (ou aproximadamente 1,5% na matéria seca do concentrado) pode auxiliar a solucionar o problema com eventuais ganhos até mesmo em produção.
- 5.2. Paralelamente, o fornecimento de óxido de magnésio na proporção de 0,25% da matéria seca da dieta irá, através de seu efeito alcalinizante, auxiliar de forma mais momentânea na manutenção do pH ruminal.
- 5.3 Em casos mais extremos, o fornecimento de bicarbonato de sódio à vontade (para lamber como sal) pode ser benéfico.
- 5.4. O uso de ionóforos pode promover resultados positivos na produção de leite, mas deve diminuir o teor de gordura do leite. Isto deve ser considerado ao se avaliar o teor de gordura no leite de determinados rebanhos.

A queda no teor de gordura e/ou inversões nos teores de gordura e proteína do leite estariam, portanto, geralmente associadas à acidose ruminal, que tem vários efeitos "colaterais" indesejáveis, evidenciados pelas ocorrências ou comportamentos abaixo relacionados, que devem ser paralelamente utilizados como ferramentas de diagnóstico:

- Crescimento anormal do casco ou alterações em sua forma
- Ocorrência de fissuras ou anéis na superfície do casco
- Maior susceptibilidade a problemas de casco como "verrugas peludas"
- Alto consumo voluntário de bicarbonato de sódio
- Consumo de matéria seca variável de um dia para o outro (maior que 1 kg por dia) e flutuações de produção
- Procura por fibra longa (consumo de palha, cama ou esterco)
- ➤ Ingestão de barro ou consumo excessivo de minerais
- Esterco sem consistência ou até mesmo diarréias com odor ácido
- Vacas magras embora recebendo dietas com alto teor energético
- Alta incidência de torções de abomaso, abcessos de figado e juntas inchadas.

Para concluir o monitoramento da gordura, a Tabela 4 resume os aspectos relacionados à variação do teor de gordura no leite.

Tabela 4: Fatores que alteram o teor de gordura do leite.

O que aumenta o teor de gordura do leite	O que diminui o teor de gordura do leite
Baixa produção de leite	Alta proporção de concentrados na dieta
Estágio avançado na lactação	Baixo teor de FDN efetiva (<21% da MS)
Alto teor de fibra (FDN) na dieta	Alto teor de carboidratos não estruturais
Fornecimento de gordura protegida (variável)	Alto teor de gordura insaturada na dieta
Inclusão de tamponantes na dieta	Utilização de ionóforos
Perda de peso excessiva no início da lactação	Alimentos muito moídos ou de rápida degradação ruminal
Subprodutos fibrosos em substituição a grãos	Subprodutos fibrosos em substituição a volumosos
Fornecimento de ração completa	Fornecimento de mais de 3,0 kg de ração por refeição
Fornecimento de cultura de leveduras (inconsistente)	Estresse térmico
Bom manejo nutricional	Mudanças bruscas na dieta, sem adaptação

Adaptado de Carvalho (2001)

# **PROTEÍNA**

De forma semelhante à gordura, o teor de proteína do leite também é influenciado por fatores genéticos, como pode ser observado na Tabela 1, anteriormente apresentada. Todavia, a amplitude de variação do teor de proteína do leite é muito menor. Enquanto a gordura pode variar as 2 a 3 unidades percentuais, a proteína dificilmente varia mais que 0,3 a 0,4 unidades percentuais em função da nutrição, sendo mais frequente variações da ordem de 0,1 a 0,2 pontos percentuais.

Esta pequena possibilidade de variação pode ser explicada pelo fato de que, em contraste com a síntese de gordura pela glândula mamária, a síntese de proteína é muito mais restrita em termos de

precursores usados e na seqüência de sua inclusão por ocasião da formação das moléculas. As unidades formadores das proteínas são os aminoácidos. A deficiência de um único aminoácido impede a síntese de toda a molécula de proteína. Sendo assim, a capacidade genética da glândula mamária produzir uma dada quantidade de proteína para o leite pode ser sub-utilizada devido a deficiências de poucos aminoácidos específicos.

Em função desta limitada variação, os parâmetros para se avaliar o teor de proteína do leite também são mais restritos. Alguns passos que se podem adotar para monitorar a nutrição pelo teor de proteína seriam os seguintes:

- 1. Verifique se a média dos teores de proteína está dentro do padrão da raça  $(3.2 \pm 0.2\%$  para o gado Holandês, no caso de proteína total, por exemplo). Valores médios 0.3% abaixo da média da raça podem indicar problemas.
  - 1.1. Também aqui, antes de admitir um problema, confira o estágio de lactação do rebanho. O teor de proteína tende a ser menor no início e aumentar conforme se aproxima o final da lactação.
    - 1.2.O verão (estresse térmico) tende a diminuir os teores de proteína no leite.
  - 2. Independente da média, verifique se os valores individuais estão dentro do padrão.
  - 2.1.No caso da proteína, como a possibilidade de variação é menor, a variação aceitável também para os dados individuais é de 0,2 unidades percentuais. Variações maiores indicam problemas. Paralelamente à média, os dados individuais servem, portanto, para que se tenha uma idéia da magnitude do problema ou então para identificar possíveis grupos de animais com problemas (animais concentrados em algum estágio de lactação, lote ou dieta específica). Numa situação ideal, nenhum animal deveria apresentar proteína total no leite abaixo de 3,0% ou proteína verdadeira abaixo de 2,8%.
  - 2.2. Verifique se há inversão dos valores de proteína e gordura (proteína maior que a gordura). Quando isto ocorre, normalmente o percentual de proteína do leite têm seu valor aumentado.

De forma semelhante à gordura, uma vez identificado um problema, para que se possa diagnosticar sua causa, outros fatores precisam ser conferidos.

Já foi mencionado que a causa mais provável para a limitação da produção de proteína do leite sejam eventuais deficiências de aminoácidos específicos. Portanto, sempre que se deseje alterar seu teor (corrigir para valores normais ou elevá-los acima da média) será necessário trabalhar os fatores que estimulem maior aporte de aminoácidos à glândula mamária.

Os aminoácidos considerados mais limitantes para a produção de leite são a lisina e a metionina. A lisina é provavelmente mais limitante em dietas à base de milho (silagem) e seus derivados (farelos e subprodutos), enquanto que em dietas à base de alfafa, pouco comuns em nosso meio, a metionina tende a ser o aminoácido mais limitante.

Em ruminantes é muito difícil a manipulação das quantidades dos diferentes aminoácidos que chegam ao intestino para absorção porque os alimentos sofrem fermentação no rúmen e grande parte da proteína metabolizada pela vaca é de origem microbiana (60 a 75%). Felizmente, esta proteína parece ser a que mais se aproxima, em termos de perfil de aminoácidos, dos requerimentos para produção de leite. Isto permite afirmar que toda estratégia que permita otimizar a produção de proteína microbiana, potencialmente irá corrigir ou melhorar seu teor no leite. Outro ponto interessante é que os fatores que tendem a elevar o teor de proteína do leite também estimulam a produção, fato talvez ligado à pequena variação no teor de proteína, que seria de certa forma "diluída" numa maior produção, apresentando ao final maior produção em termos de quantidade sem que seu teor se altere.

A seguir, são discutidos os fatores que parecem estar mais relacionados à otimização da fermentação ruminal para a produção de proteína microbiana.

#### Fatores que afetam o teor de proteína no leite.

#### 1. Ingestão de energia.

A ingestão de energia é o principal fator nutricional relacionado ao teor e produção de proteína do leite. O aumento da ingestão de energia através de fontes de carboidratos (não através de gordura) aumenta a produção e a porcentagem de proteína no leite. Quando isto ocorre, alguns trabalhos estimam que cerca de 85% do aumento da produção de proteína se dá através de maior produção de leite enquanto que somente 15% da resposta está relacionada a aumentos na porcentagem de proteína do leite.

A ingestão de energia está relacionada à ingestão de matéria seca e à densidade energética da dieta. O aumento da densidade energética da dieta normalmente é dependente do fornecimento de maior proporção de concentrados na dieta, o que aumenta a produção de ácido propiônico no rúmen, conforme já discutido anteriormente. Parece haver uma relação positiva entre a produção de ácido propiônico no rúmen e o teor de proteína no leite. Alguns pesquisadores defendem a tese de que a população de microorganismos que têm o ácido propiônico como principal produto final da fermentação (principalmente aqueles que digerem amido) devem possuir perfil de aminoácidos mais adequado à síntese da proteína do leite.

Isto coloca os nutricionistas num dilema: encontrar o ponto de equilíbrio na fermentação ruminal que otimize tanto a produção de gordura quanto de proteína do leite, já que a primeira é favorecida pela produção de acetato e butirato, como produtos finais da fermentação, e a segunda requer maior produção de ácido propiônico. A decisão depende do peso que cada um destes componentes têm na composição do preço final do leite (se é que isto é considerado).

De forma geral, sistemas de pagamento do leite que valorizem volume, sugerem maior atenção ao teor de proteína, que estaria diretamente relacionado à produção de leite. Sistemas que valorizem os componentes do leite tendem a forçar um trabalho no sentido de se aumentar principalmente o teor de gordura do leite, que é mais fácil de manipular, mas que cuja elevação normalmente conduz a menor nível de produção.

De certa forma, os fatores que estimulam a produção de gordura e proteína no leite são quase que antagônicos. Sendo assim, os parâmetros apresentados anteriormente para manutenção dos níveis de gordura da dieta devem ser mantidos dentro do mínimo necessário para o bom funcionamento ruminal (evitar acidose) para que a proteína seja maximizada. Um exemplo disso seria o teor de fibra da dieta: os valores sugeridos anteriormente como diretrizes são para garantir o bom funcionamento ruminal. Eles podem ser aumentados, caso se pretenda aumentar o teor de gordura do leite (provavelmente com prejuízo da produção), mas não se pode diminuí-los, visando o aumento da proteína do leite, sob pena do animal ficar sujeito a distúrbios ruminais. Eles podem, portanto, ser considerados níveis ótimos para a máxima produção de proteína no leite e devem ser perseguidos quando este for o objetivo.

#### 2. Gordura.

A ingestão de energia pode ser aumentada pela inclusão de gordura na dieta. Contrariamente ao aumento da energia disponível através do aumento da ingestão de matéria seca, de maior proporção de concentrados ou carboidratos não estruturais, ou até mesmo da melhor utilização do amido disponível, a adição de gordura à dieta normalmente diminui a porcentagem de proteína no leite em 0,1 a 0,3 unidades percentuais.

A explicação para isso é que os microorganismos do rúmen não são capazes de utilizar os lipídeos como fonte de energia para seu crescimento. Isto limita a produção de proteína microbiana e, consequentemente, o aporte de aminoácidos para a glândula mamária. Este efeito é semelhante independente do tipo de gordura utilizada, já que, mesmo as gorduras inertes no rúmen, limitam a fermentação. Em função disso, é recomendável aumentar a quantidade de proteína não degradável

no rúmen, para que se mantenha o teor de proteína do leite em dietas com alta inclusão de gordura. É importante destacar que este procedimento pode reduzir mas não elimina totalmente o efeito da gordura no teor de proteína do leite.

#### 3. Aditivos.

O fornecimento de ionóforos, aumenta a eficiência de fermentação no rúmen e a proporção molar de ácido propiônico. Esta maior disponibilidade de ácido propiônico é associada por alguns pesquisadores a maior disponibilidade de alguns aminoácidos que favorecem a síntese de proteína do leite. É de se esperar, portanto, pequeno aumento no seu teor quando este aditivo é empregado.

A niacina é outro aditivo ainda pouco comum em nosso meio. Sua maior função biológica é relacionada à sua participação como coenzima de algumas etapas do metabolismo energético. Ela é naturalmente sintetizada pelos microorganismos do rúmen mas sua produção pode ser limitada em situações desfavoráveis (alterações de dieta, grande quantidade de grãos, baixo pH). Segundo Hutjens (1992), estudos conduzidos por pesquisadores do Kansas (EUA) demonstraram que a suplementação de niacina aumentou a ingestão de matéria seca, aumentando a produção de proteína bacteriana e diminuindo a concentração de nitrogênio uréico no leite. Estas observações possivelmente explicam o fato de vários estudos também relatarem aumento no teor de proteína do leite (Tabela 5).

Tabela 5: Respostas à suplementação de niacina.

	<b>3</b> 77	Aumento em relação ao controle			
Dietas	Número – de estudos	Leite (kg)	Gordura (%)	Proteína (%)	
Normal	19	+ 0,76	+ 0,156	+ 0,06	
Com adição de gordura	5	- 0,39	- 0,044	+ 0,10	

Adaptado de Hutjens (1992).

A recomendação padrão é o fornecimento de 6 a 12 gramas de niacina por animal/dia, a partir das duas últimas semanas que precedem o parto até aproximadamente o pico de consumo de alimentos (80 a 120 dias após o parto).

# 4. Teor de proteína da dieta.

O teor de proteína da dieta tem pouca influência no teor de proteína do leite. A suplementação extra de proteína, qualquer que seja sua degradabilidade ruminal, apresenta efeitos pouco consistentes na concentração de proteína do leite, embora possa aumentar sua produção através de aumentos indiretos na produção de leite como um todo. Para que se tenha uma referência, cada aumento no teor de proteína da dieta, variando de 9 a 17%, promoveu um aumento de somente 0,02% no teor de proteína do leite (Emery, 1978). Por outro lado, deficiências severas de proteína na dieta podem conduzir a reduções de 0,1 a 0,2 unidades percentuais na proteína do leite.

Respostas positivas à suplementação de proteína de baixa degradação ruminal ou ainda de aminoácidos protegidos, só ocorrem quando o metabolismo da dieta basal resulta em quantidades inadequadas de aminoácidos no intestino. Para tal, a composição em aminoácidos do suplemento em questão, bem como sua concentração e degradabilidade ruminal devem ser considerados para que este procedimento traga resultados economicamente efetivos. Esta, portanto, é uma forma bastante limitada de se corrigir problemas de baixo teor de proteína no leite.

Para resumir, a Tabela 6 traz os principais fatores envolvidos nas variações do teor de proteína do leite.

Tabela 6: Fatores que alteram o teor de proteína do leite

O que aumenta o teor de proteína do leite	O que diminui o teor de proteína do leite
Baixa produção de leite	Baixo consumo de matéria seca
Estágio avançado na lactação	Falta de proteína degradável (< 60% da PB)
Baixo teor de gordura no leite (<2,5%)	Falta de proteína solúvel (< 30% da PB)
Proporções e quantidades adequadas de aminoácidos essenciais (especialmente lisina e metionina)	Falta de carboidratos não estruturais (< 30% da MS)
Dietas com alto teor de carboidratos não	Fornecimento de gordura adicional (além dos
estruturais, desde que não levem à acidose	2-3% naturais dos alimentos)
Inclusão de niacina e ionóforos na dieta	Excesso de fibra na dieta
Fornecimento de forragem de alta qualidade	Estresse térmico

Adaptado de: Carvalho (2001).

# NITROGÊNIO URÉICO

O teor de proteína total do leite é calculado indiretamente pela multiplicação de seu teor de nitrogênio pelo fator 1,38. A proteína do leite engloba portanto a proteína verdadeira (caseína e proteínas do soro) e o nitrogênio não protéico.

Como o nome sugere, o nitrogênio uréico representa a porção do nitrogênio no leite na forma de uréia. O nível de nitrogênio uréico do leite acompanha os níveis de nitrogênio uréico no sangue (com um atraso de 1 a 2 horas). O nitrogênio uréico no leite reflete assim o nível de nitrogênio sangüíneo nas últimas 12 horas que o leite foi produzido (8 horas se as vacas forem ordenhadas 3 vezes ao dia).

Alguns laboratórios nacionais já estão aparelhados para realizar este tipo de determinação de forma rápida e barata. Outros deverão se equipar em breve. Se bem utilizados, os resultados de nitrogênio uréico no leite podem ser de grande valia para o monitoramento da nutrição protéica e de carboidratos da vaca leiteira.

O excesso de proteína na dieta, especialmente nas formas degradável e solúvel, quando não completamente utilizada pelos microorganismos do rúmen (convertida a proteína microbiana), é absorvida pela parede ruminal para a corrente sangüínea. Este nitrogênio, na forma de amônia, é convertido em uréia no fígado. A quantidade de amônia produzida e a quantidade que escapa para conversão a uréia reflete diretamente tanto o nível de proteína degradável no rúmen quanto a disponibilidade de carboidratos fermentecíveis para suportar o crescimento microbiano e a síntese protéica.

Uma vez convertida a uréia pelo fígado, ela circula pelo sangue. Por se tratar de uma pequena molécula solúvel em água e altamente permeável, ela entra em equilíbrio com todas células e tecidos, incluindo o sangue e o leite, na glândula mamária. Uma parte da uréia é reciclada no rúmen e outra é excretada na urina.

Vários estudos demonstram que o excesso de proteína na dieta está relacionado a problemas de fertilidade em rebanhos leiteiros. A consideração das frações da proteína, ao invés da proteína bruta, explica grande parte da variação nas taxas de concepção observadas entre os estudos. O elemento chave nesta questão parece ser a formação de uréia.

O excesso de uréia parece atuar basicamente de duas formas: ao circular pelos tecidos ela teria um efeito "tóxico" no útero, influenciando seu pH e consequentemente criando um ambiente

impróprio para o desenvolvimento embrionário. Paralelamente, ela teria um efeito negativo no balanço energético do animal, já que a excreção de cada grama de nitrogênio em excesso requer cerca de 7,4 kcal de energia metabolizável. Esta exacerbação da deficiência energética parece estar relacionada a uma menor produção de progesterona em vacas leiteiras, o que também contribuiria para menor fertilidade.

Outro forte argumento para monitoramento do metabolismo protéico é o alto custo associado ao desperdício deste nutriente. Jonker e Kohm (1998) estimam que cada unidade de nitrogênio uréico no leite representa a necessidade de excreção de quase 90 gramas de proteína, ou quase 180 gramas de farelo de soja.

Valores individuais de nitrogênio uréico no leite podem variar tremendamente (de um mínimo de 1 até valores de 30 mg/dl). A recomendação portanto é que se trabalhe com médias de pelo menos 10 animais, o que deve refletir o valor médio do grupo com eventuais erros de 1 ou 2 unidades.

Valores tidos como ideais para um rebanho estão compreendidos numa faixa entre 12 e 18 mg/dl (alguns valores individuais provavelmente estarão fora desta faixa). A Tabela 7 permite maior "refinamento" da interpretação dos dados, ao associar os valores de nitrogênio uréico no leite com o teor de proteína do leite. Para vacas em final de lactação ou de raças com maior teor de sólidos no leite, os valores de proteína devem ser aumentados.

Tabela 7: Interpretação dos resultados de nitrogênio uréico no leite, com níveis de proteína para a raça Holandesa.

% de proteína do	Nitrogênio uréico	Nitrogênio uréico	Nitrogênio uréico	
leite	< 12 mg/dl > 12 e < 17 mg/dl		> 18 mg/dl	
Abaixo de 3,0	Deficiência de:  Proteína bruta  Proteína degradável  Proteína solúvel	Deficiência de:  Proteína bruta CHO não estruturais Aminoácidos	Excesso de:  Proteína bruta  Proteína degradável  Proteína solúvel  Deficiência de:  CHO não estruturais	
			Desbalanço de AA	
Acima de 3,2	Adequação em AA  Deficiência de:  Proteína degradável  Proteína dolúvel  Excesso de:	Balanço de AA Balanço de CHO	Excesso de:  Proteína degradável  Proteína solúvel  Deficiência de:  CHO não estruturais	
	· CHO não estruturais			

Adaptado de Hutjens (1996). AA = aminoácidos; CHO = carboidratos

Observe que valores médios de uréia no leite para o rebanho abaixo de 12 mg/dl (alguns valores individuais abaixo de 8 mg/dl) refletem deficiências protéicas ou excessos de carboidratos na dieta. Isto pode limitar a fermentação ruminal, a produção de proteína microbiana e o desempenho do animal.

Por outro lado, se a média de uréia do rebanho estiver acima de 18 (valores individuais acima de 25) perdas severas devem estar ocorrendo (perda energética para eliminação da uréia, menor taxa de concepção, deficiência imunológica, desperdício de proteína, contaminação ambiental).

A avaliação do nitrogênio uréico no leite pode ser feita trimestralmente para que se estabeleçam valores básicos, e/ou quando ocorrerem grandes mudanças na dieta, ou ainda quando se suspeitar de problemas relacionados ao excesso de proteína (baixa taxa de concepção). Considere testar os valores de nitrogênio uréico quando:

- 1. Fornecer pasto novo na primavera
- 2. Novas forragens forem introduzidas na dieta
- 3. Alterar a degradabilidade e/ou solubilidade da proteína da dieta
- 4. Alterar o tamanho das partículas ou a umidade dos grãos
- 5. Ocorrer um declínio na taxa de concepção do rebanho
- 6. O teor de proteína do leite estiver baixa
- 7. Houver alteração na consistência ou odor das fezes.

Teste todo o rebanho se o preço da análise for razoável, especialmente numa primeira análise (para estabelecer um parâmetro de comparação para o futuro). Faça as médias dos valores para as vacas de alta produção, primeira cria, por estágio de lactação ou outros grupos que achar necessário para verificar se existem variações dentro do rebanho. Resultados de vacas recém paridas, com menos de 35 dias em lactação, são variáveis e difíceis de interpretar.

#### **LACTOSE**

Como regra geral, a menos que os animais estejam muito subnutridos, a concentração de lactose no leite não pode ser alterada por fatores nutricionais. Sendo assim, ela é de pouco valor para o monitoramento nutricional de vacas leiteiras.

Esta baixíssima amplitude de variação se deve ao fato de a lactose estar relacionada à regulação da pressão osmótica na glândula mamária de forma que maior produção de lactose determina maior produção de leite, com o mesmo teor de lactose.

# **SÓLIDOS**

A variação no teor de sólidos totais (gordura + proteína + lactose + cinzas) é, em sua grande parte, dependente das variações no teor de gordura do leite, fração com maior amplitude de variação, conforme já discutido. No caso dos sólidos não gordurosos, talvez o único componente com capacidade limitada de variação em função da nutrição é a proteína, conforme também já discutido. Sendo assim, as variações nos sólidos podem ser melhor explicadas pelas variações em seus componentes, discutidos até o momento, o que torna também esta informação de pouca valia para o monitoramento nutricional do rebanho.

#### **ACIDEZ**

A acidez, uma análise do leite realizada na plataforma de recepção dos laticínios como método inicial de avaliação da qualidade do leite, pode ter alguma relação com a nutrição do rebanho em lactação.

A implicação usual de altos valores de acidez no leite é que este contém elevados níveis de ácido láctico. A causa mais provável disso é a conversão do açúcar do leite, a lactose, a ácido láctico por bactérias. Sendo assim, alta acidez <u>implica</u> em alta concentração de ácido láctico que, por sua vez, <u>implica</u> em alta contagem bacteriana. No entanto, a acidez não mede a contagem bacteriana do leite.

Leite fresco analisado diretamente de vacas individuais contêm pouca ou quase nenhuma bactéria e pouco ácido láctico; mesmo assim possui valores de acidez que variam de 0,10 a 0,30. Para análises realizadas em leite do tanque, o valores variam de 0,14 a 0,18. Os componentes que contribuem para esta acidez natural do leite são o dióxido de carbono, a proteína, os fosfatos e os citratos. Quanto maior a concentração destes compostos, maior a acidez observada. Em razão disso, o leite de uma vaca Jersey normalmente terá maior acidez que o de uma Holandesa já que o leite da Jersey tem maior porcentagem de proteína.

Uma vez que a concentração destes nutrientes que influem na acidez é variável, não há um padrão fixo que possa ser considerado normal na ausência de ácido láctico produzido por bactérias. Somente através da análise rotineira do leite de cada produtor, um valor histórico pode ser estabelecido e posteriormente utilizado como guia que, quando excedido <u>pode</u> indicar alta contagem bacteriana. Isto só será comprovado através de análises complementares de contagem bacteriana, por exemplo.

Sob o ponto de vista nutricional, a acidez do leite isoladamente tem pouco valor. Por sua relação com o teor de proteína do leite, ela pode ser um indício de adequação da nutrição protéica, especialmente no que se refere aos teores e quantidades de aminoácidos essenciais, caso altos valores de acidez no leite sejam reflexo de altos níveis de sólidos no leite. Se esta acidez for conseqüência de alta contagem bacteriana no leite, nada pode ser concluído em relação à nutrição.

# **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

É importante ficar claro que a composição do leite não deve ser utilizada como único parâmetro na identificação de problemas e tomada de decisões acerca de sua solução. Outros indicadores de desequilíbrios nutricionais devem ser associados a estas informações para que se possa aumentar a probabilidade de acerto. Algumas recomendações de caráter mais genérico são colocadas a seguir:

- 1. Avalie a composição do leite a cada 3 meses ou sempre que houver alguma alteração significativa na dieta;
- 2. A análise dos componentes no leite do tanque traz informação de pouca valia já que, a princípio, só tem capacidade de identificar problemas de grande monta, que atinjam grande parte do rebanho, ou então que provoquem alterações pronunciadas na composição do leite de algum grupo específico;
- 3. Sempre associe os dados de composição do leite com o desempenho produtivo e reprodutivo do rebanho, bem como com a incidência de distúrbios metabólicos;
- 4. Não se atenha às médias. Avalie também o desvio padrão e a dispersão dos valores. Identifique se o problema é individual, está relacionado a algum grupo específico ou ao rebanho como um todo;
- 5. Certifique-se que a amostragem e envio ao laboratório foram feitos corretamente e que os métodos de análise são confiáveis (desconfie de valores muito discrepantes);
- 6. A concentração dos componentes do leite pode cair transitoriamente após mudanças (especialmente bruscas) na dieta. Evite portanto coletar amostras de leite até 15 dias após estas mudanças.

#### **BIBLIOGRAFIA CONSULTADA**

- Bachman KC (1992). Managing Milk Composition. In: *Large Dairy Herd Management*. American Dairy Science Association. Champaign, IL. Chap. 35, p. 336-346.
- Barbano D (1999). Trends in milk composition and analysis in New York. In: *Proceedings of the 1999 Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers*. Rochester, NY.
- Carvalho MP (2001). Manipulando a composição do leite: Gordura. In: *1º Curso Online Sobre Qualidade do Leite*. Capítulos 5 e 6. http://www.milkpoint.com.br.
- Emery RS (1978). Feeding for increased milk protein. J. Dairy Sci. 61: 825.
- Erdman R (1996). Milk Fat Depression: Some New Insights. In: *Tri-State Dairy Nutrition Conference*, Fort Wayne, IN, p. 1.
- Hinders R (1997). Additional research needed to increase milk protein through the ration. *Feedstuffs*, 13/01.
- Hutjens MF (1992). Selecting Feed Additives. In: *Large Dairy Herd Management*. American Dairy Science Association. Champaign, IL. Chap. 32, p. 309-317.
- Hutjens MF (1996). MUN as a management tool. In: *Illinois Dairy Report*, Building on Basics, University of Illinois, Champaign, IL.
- Ishler VA, Adams RS (1999). Trouble-shooting problems with milk fat depression. *Department of Animal Science Report no 99-2: Dairy Cattle.* The Pennsylvania State University, PA.
- Ishler V, Gabriela V (2001). Carbohydrate nutrition for lactating dairy cattle. *Department of Animal Science Report no 01-29*. The Pennsylvania State University, PA.
- Jonker J, Kohn R (1998). MUN testing: useful but ambiguous. *Hoard's Dairyman*, March 25. p. 252.
- Kenelly J (1999). Milk composition in the cow. In: *Proceedings of the 1999 Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers*. Rochester, NY
- Sutton JD (1989). Altering milk composition by feeding. J. Dairy Sci. 72(10):2801-2814.

# TRANSTORNOS METABÓLICOS QUE AFETAM A QUALIDADE DO LEITE\*

Luis Barros, DVM, MsV, PhD
Departamento de Ruminantes
Faculdade de Veterinária, Universidade da República
Lasplaces 1550, CP 11600, Montevidéu, Uruguai
E-mail: luisb@adinet.com.uy

# INTRODUÇÃO

A secreção láctea é importante na nutrição humana e animal e, conforme a variação das necessidades de alimentação e das preferências do consumidor, o enfoque da produção tem modificado com o tempo. Nesse sentido, inicialmente interessou o volume e a qualidade higiênica do leite; depois o teor gorduroso e, atualmente, também o teor protéico. Estas demandas do mercado têm influenciado o manejo da alimentação e os hábitos dos animais, quem têm sido exigidos metabolicamente para cumprir com as necessidades produtivas dos estabelecimentos leiteiros.

O equilíbrio entre a produção e a saúde das vacas é instável sob determinadas condições, sendo uma necessidade técnica estabelecer as causas de variação na composição do leite para manter um sistema de produção sadio e economicamente rentável.

Neste artigo serão tratados alguns dos fatores metabólico-nutricionais mais importantes que afetam a qualidade do leite no que concerne a produção de gordura, proteínas e a estabilidade física do leite.

Genericamente poderiam classificar-se os diferentes fatores metabólico-nutricionais que afetam a composição do leite como a seguir:

- (1) Fatores do meio ambiente:
  - Nutrição: composição da dieta (fibra);
  - Alimentação: pastagem, ração, suplementos, aditivos;
  - Manejo : nível de produção;
  - Sazonais.
- (2) Fatores internos:
  - Genéticos:
  - Sanitários (mastite);
  - Balanço metabólico-energético;
  - Período de lactação.
- (3) Relação alimentos metabolismo leite.

# FERMENTAÇÃO RUMINAL E COMPOSIÇÃO DO LEITE

A fermentação ruminal exerce uma ação sobre a composição do leite que é muito variável considerando os diferentes elementos que intervêm como precursores dos componentes do leite. Nesse sentido, as proteínas, conforme sejam absorvidas diretamente pelo intestino (na forma de aminoácidos) ou sofram o processo de fermentação que as incorpora na proteína bacteriana podem intervir na proteína láctea em percentagens relativos de 40% e 60%, respectivamente.

O amido e os açúcares participam mediante o ácido propiônico na formação de 50% da lactose. A fibra fermentável participa em 20% da gordura butirométrica através do ácido butírico, enquanto

<sup>\*</sup> BARROS L (2001). Transtornos metabólicos que afetam a qualidade do leite. 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.

Tradução de Félix H.D. González (felixgon@orion.ufrgs.br).

que a gordura absorvida diretamente pelo intestino pode participar em 80% da gordura do leite (Figura 1).

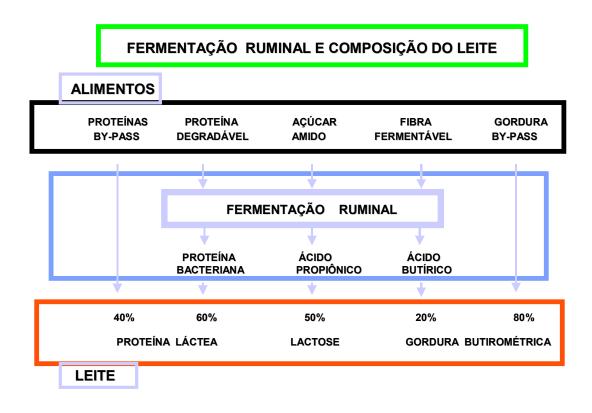


Figura 1.Elementos da dieta que intervêm com uma composição centesimal variável dependendo de sua fermentação no rúmen ou de sua passagem intestinal (Hoover, 1996).

#### GORDURA DO LEITE

A produção de gordura no leite tem sido um fator de desenvolvimento na produção devido aos estímulos econômicos que o produtor tem recebido de parte do setor industrial, desde algum tempo atrás. O interesse em produzir maior quantidade de gordura por litro de leite tem mobilizado o setor para uma melhora técnica na alimentação e o manejo. Com esse tecnicismo, tem sido conhecidos uma série de fatores que influem o teor butirométrico do leite. A fim de classificá-los para o seu estudo podem ser considerados aqueles mais gerais e os diretamente relacionados com a dieta.

Neste ponto é interessante considerar que quando são realizadas amostragens para a medição de gordura diretamente em vacas em ordenha, deve levar-se em conta que a "descida" da gordura na úbere durante o tempo de ordenha é diferente, sendo o leite do início muito menos gordurosa e mais concentrada no final. Isso indica, na prática, que retirar amostras dos primeiros "jatos" é um fator importante de erro de amostragem, de modo que o controle durante a ordenha deve realizar-se com um medidor que retire alíquotas durante todo esse tempo.

Para a consideração do tema, são explicitados os fatores de variação da quantidade de gordura produzida pela glândula mamária, a formação da gordura do leite, a composição do leite e o efeito de fatores como o consumo de gordura na dieta, a carência energética e a acidose ruminal.

#### Fatores de variação do teor butirométrico do leite.

Existem diferentes fatores que influem na quantidade de gordura do leite, entre os quais se destacam:

- Genéticos: raças ou linhas genéticas dentro da raça;
- Nível de produção: o aumento da produção diminui o teor butirométrico;
- Período de lactação: com 8-10 semanas, maior proporção de cadeias curtas;
- Período de gestação: independente do período de lactação, pico em mias de +32 semanas;
- Sazonais: alimentos, parições.

#### Variação do teor butirométrico devida à dieta.

- Influência do aporte energético;
- Pouca influência do aporte protéico;
- Influência do aporte de gordura (<2% ácidos graxos);
- Influência do tipo de alimento (forragem, feno, silagem, concentrado);
- Quantidade e tipo de fibra (ADF 28%, NDF 21%, CB 17%);
- Concentrados (>50 % MS);
- Composição do alimento (sementes algodão, farelos);
- Influência da apresentação do alimento (primeiro feno, depois concentrado);
- Relação forragem/concentrados (60/40%);
- Tamanho das partículas (menor tamanho = menor teor butirométrico);
- Frequência de distribuição (aumento da frequência melhora o teor butirométrico).

# Origem da gordura.

De forma muito esquemática poderia sintetizar-se que os precursores da gordura do leite têm sua origem em metabólitos circulantes no sangue que aportam a matéria prima principal para a formação de gordura pela glândula mamária. O leite contém por volta de 4% (p/p) de gordura, variável conforme uma série de fatores intrínsecos e extrínsecos ao animal. Na Figura 2 se mostra um esquema representando os principais precursores. Os metabólitos absorvidos pela parede ruminal para o sangue, acetato e  $\beta$ -hidroxibutirato, bem como aqueles circulantes provenientes do tecido adiposo ou do fígado, os ácidos graxos não esterificados (AGNE) ou os triglicerídeos e também a glicose, são os precursores bioquímicos que capta a célula secretória mamária através de sua membrana para transforma-los em gordura neutra.

# Origem da gordura do leite

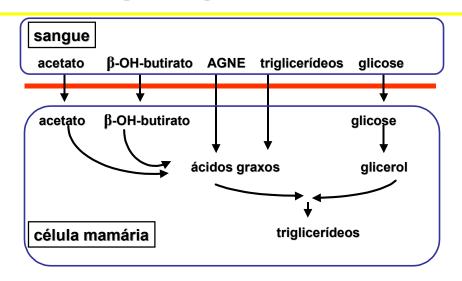


Figura 2. Precursores circulantes no sangue captados pela célula epitelial mamária utilizados para a formação de gordura neutra. AGNE= ácidos graxos não esterificados (modificado de Enjanbert, 1994).

Enfocando uma relação entre o rúmen, o intestino e a glândula mamária no processo de formação da gordura butirométrica, poderia estabelecer-se uma via adonde:

- (1) A gordura neutra que chega ao <u>rúmen</u> por via digestiva, é transformada seguindo dois processos: primeiro ocorre a hidrólise dos triglicerídeos gerando ácidos graxos livres e glicerol. Esse glicerol é um precursor do ácido propiônico que será utilizado para a formação de lactose do leite. Num segundo passo, os ácidos graxos livres de cadeia longa sofrem um processo de biohidrogenação no rúmen, mecanismo que permite um aumento de sua absorção por parte das células do intestino. A biohidrogenação produz uma maior taxa de ácidos graxos saturados que permitem um aumento na digestibilidade e, por tanto, de seu valor nutritivo tanto para o terneiro como para o humano. Existe uma relação e um controle entre a quantidade de C18:1 e de C18:2 circulantes, de forma que um excesso do primeiro inibe a formação do segundo.
- (2) No <u>intestino</u> sofrem novamente esterificação convertendo-se em triglicerídeos que são absorvidos por via sangüínea e distribuídos até a glândula mamária.
- (3) Esses triglicerídeos são captados pelas las células mamárias para a formação de gordura neutra de cadeia longa com 18 carbonos, por sua esterificação com glicerol. Por outra parte, a mesma célula mamária realiza o segundo processo de significância na formação da gordura do leite que consiste na síntese de gorduras de cadeia curta (4 a 16 carbonos, Figura 3).

# Origem da gordura do leite

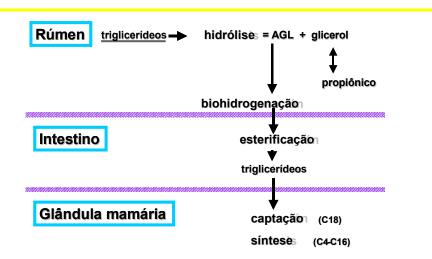


Figura 3. Origem da gordura do leite em relação com o rúmen, o intestino e a glândula mamária.

#### Composição da gordura do leite.

A composição da gordura do leite pode resumir-se desde o ponto de vista de sua gênese em ácidos graxos com cadeias carbonadas de 4 a 20 carbonos, sendo chamados de cadeia curta (4 a 12C) e de cadeia longa (14 a 20C). As proporções relativas dessas cadeias dependem da regulação dos mecanismos de secreção/excreção por parte das células mamárias e do aporte sanguíneo na glândula mamária.

Os ácidos graxos de cadeia curta (C4, C6, C8, C10, C12) perfazem 13,1 g/100g, sendo o C4 o mais abundante (3,3 g/100g). Os ácidos graxos de cadeia longa têm diferentes proporções. Assim, os C14 têm 14,0%, os C16 32,9% e os C18 39,5% (Palmquist,1993).

É importante assinalar aqui que a secreção de gordura desde a célula mamária para o lúmen dos acinos glandulares, é feita na forma de glóbulos de gordura recobertos por uma membrana plasmática, que atua de modo a proteger da degradação dos triglicerídeos. Os glóbulos de gordura podem ser de dois tipos: pequenos de menos de 1  $\mu$ m de diâmetro que representam ao redor de 2% do total de gordura e maiores, de tamanho entre 1 e 10  $\mu$ m, que migram dentro da célula para dirigir-se na membrana apical e ser secretados ao exterior. Este processo é ativo e não somente de passagem através das membranas celulares.

#### Ingestão de gordura.

Como foi discutido anteriormente, a ingestão de gordura por parte da vaca leiteira é um elemento importante como fonte para a taxa butirométrica. Existem uma série de fatores e de mecanismos de ação da alimentação que influem sobre o conteúdo final de gordura no leite. Há fatores relacionados com o rúmen, com o metabolismo energético e com o aporte de precursores à glândula mamária que afetam o volume de produção de leite e a quantidade de gordura produzida por dia pelo animal.

O aporte em quantidade e qualidade de gordura na dieta tem um efeito direto sobre a fermentação ruminal, provocando, por uma parte a modificação na ingestão por efeito da saciedade no animal e, por outro, pela modificação das fermentações ruminais com modificação da flora

celulolítica. Os microorganismos ruminais crescem de forma diferencial variando as concentrações de ácido propiônico, acético e butírico que induzem a um desvio na formação de corpos cetônicos, que são os precursores utilizados pelos mamócitos para a síntese de ácidos graxos não esterificados.

As variações de pH do rúmen também influem sobre a variação da concentração relativa dos ácidos graxos voláteis, que são absorvidos pela parede ruminal e que são distribuídos por via sangüínea, afetando diretamente a formação de gordura pelo déficit no aporte de corpos cetônicos (acetoacetato e β-hidroxibutirato) pelo desvio do seu metabolismo (Figura 4).

A <u>absorção</u> de lipídeos está vinculada estreitamente com o balanço energético pela relação existente entre o metabolismo hepático e o tecido adiposo que provocam a modificação da relação reserva/excreção dos lipídeos do organismo e, dessa maneira, a regulação das reservas corporais de energia. Essa regulação está diretamente relacionada com o aporte de ácidos graxos de cadeia longa que são oferecidos à célula secretória mamária e, por tanto, com a quantidade relativa destes ácidos no produto final, que se estão, também, vinculados com o volume secretado, particularmente pelo controle celular da regulação do processo de síntese/captação de ácidos graxos para manter um balanço proporcional na secreção de gordura (Figura 4).

A importância prática desses efeitos pode ser evidenciada no balanço energético negativo obrigatório no início da lactação, onde a vaca não pode consumir os alimentos necessários para equilibrar os requerimentos impostos pela produção de leite devido à limitação do volume ruminal. A deficiência energética nesse período, manifestada por uma perda de peso, provoca, por um lado, a mobilização de gordura de reserva, com o conseguinte ingresso de trilglicerídeos na circulação sangüínea aportando –como foi visto anteriormente- os ácidos graxos de cadeia longa ao leite e, por outra parte, uma redução do balanço dos ácidos graxos insaturados.

Nas vacas de alta produção, durante o período de início de lactação e no pico de lactação, ocorre um aumento na mobilização de gordura de depósito, com maior risco de cetose e uma modificação na composição da gordura do leite.

Finalmente, a digestibilidade dos lipídeos depende da origem da gordura aportada na dieta. Por exemplo, a digestibilidade depende conforme o aporte seja: (1) de fibra digerível que se transforma em gordura; (2) de gordura protegida, que aumenta a absorção em nível intestinal, diminuindo sua transformação no rúmen, ou (3) se sua origem provêm de alimentos contendo maior quantidade de gordura insaturada, como é o caso de alguns farelos (girassol ou soja) comparadas com pastagem.

Em <u>resumo</u>, o aporte de gordura pela dieta e sua transferência para a gordura do leite, depende dos fatores já indicados: (1) da biohidrogenação ruminal, (2) da absorção e (3) da deposição no tecido adiposo (Figura 5).

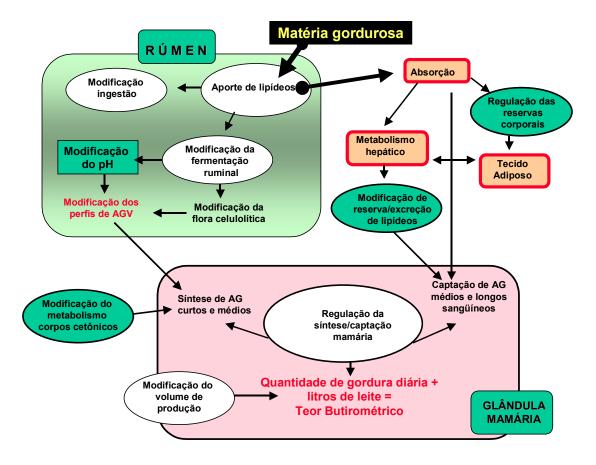


Figura 4. Relação entre a ingesta de matéria gordurosa e o teor butirométrico em função dos efeitos sobre o rúmen, o balançoe energético e a glândula mamária (Modificado de Labarre, (1994).

# Teor butirométrico por gordura na dieta

- A <u>transferência</u> da gordura da <u>dieta</u> para o <u>leite</u> depende:
- da biohidrogenação ruminal
- da absorção (digestibilidade)
- da deposição no tecido adiposo

Figura 5. Dependência do teor butirométrico com a transferência de gordura da dieta.

# O BALANÇO ENERGÉTICO NEGATIVO

O balanço energético negativo provoca uma série de atividades metabólicas nos diferentes tecidos que trazem como conseqüência a glicogenólise, a neoglicogênese e a mobilização dos lipídeos de reserva. Existem notórias diferenças na concentração dos corpos cetônicos circulando no sangue entre as vacas secas e as vacas em lactação, como conseqüência do aumento da mobilização por efeito da produção de leite, uma vez que esta via não tem nenhuma regulação: sua intensidade depende principalmente da disponibilidade de acetil-Co A nos hepatócitos dependendo fundamentalmente da β-oxidação dos ácidos graxos. Esse aumento de corpos cetônicos no sangue pode ser evidenciado indiretamente pelo aumento dos mesmos no leite (Tabela 1).

Tabela 1. Estado natural e distribuição de corpos cetônicos (mmol/l) na circulação plasmática livre.

Estado	Beta-OH-butirato	Acetoacetato
Vaca seca	$0,27 \pm 0,04$	$0.01 \pm 0.003$
Vaca em lactação	$0.95 \pm 0.18$	$0.13 \pm 0.03$

(Bruss, 1997)

O balanço energético negativo utiliza os mesmos mecanismos de compensação sem importar se o desequilíbrio provêm: (1) da relação entre o déficit de ingestão e o gasto de início de lactação; (2) por efeito da cetose; ou (3) como conseqüência de um jejum forçado dos animais. Em todos esses casos, a conseqüência sobre a quantidade e o tipo de gordura do leite tem uma resposta similar, dependendo da sua intensidade, da duração ou da gravidade dos processos patológicos. O efeito sobre a gordura do leite será de um aumento de ácidos graxos de cadeia longa provenientes da mobilização das reservas lipídicas e, simultaneamente, de uma diminuição na síntese dos ácidos graxos de cadeia curta pelo menor aporte de precursores à glândula mamária (Figura 6).

# Balanço energético negativo

- A mobilização de gordura no início da lactação:
   incorpora AG de cadeia longa ao leite
- Em balanço negativo, a glândula mamária recebe:
  - < acetato</p>
  - · < glicose

#### sintetiza menor quantidade de AG de cadeia curta

#### **Exemplo:**

vacas com cetose: diminuem AG de cadeia curta (36 mol/100mol) vacas em jejum (5 dias): diminuem AG cadeia curta (64 mol/100mol)

Figura 6. Composição da gordura do leite em função do balanço energético negativo.

#### **ACIDOSE RUMINAL**

A acidose ruminal é uma indigestão dos ruminantes provocada por um erro dietético devido ao consumo excessivo de carboidratos facilmente fermentescíveis e caracterizada por um desvio da fermentação para a acidez, cursando com um quadro clínico agudo de desidratação e morte. Suas manifestações clínicas agudas se apresentam poucas horas após a ingestão de alimentos contendo uma alta proporção de carboidratos simples e baixos em fibra.

Os casos que se apresentam com mais freqüência são as formas subclínicas e as crônicas que não são tão dramáticas e que dependem majoritariamente do manejo e da alimentação. Estas situações têm mais importância econômica que patológica porque provocam a diminuição da produção láctea e alterações na composição do leite.

Os alimentos mais perigosos são os grãos, as frutas e as farinhas. A diminuição relativa de fibra estimula o crescimento de microorganismos que degradam os carboidratos simples diminuindo aqueles com atividade celulolítica. Uma relação de forragem/concentrado superior a 40/60% é de alto risco para os ruminantes e, particularmente, para aqueles que não se encontram acostumados com essa dieta. Os acidentes de manejo, tais como animais soltos com livre acesso a depósitos de alimento ou silos, bem como a falta de água em animais em confinamento (*feed-lot*) são os fatores mais freqüentes de acidose ruminal aguda. Entre os alimentos os grãos, particularmente, o trigo, a cevada e o milho estão entre os mais perigosos por seu alto conteúdo de amido.

O aporte de carboidratos facilmente fermentescíveis, como o amido ou os açúcares, modifica o crescimento diferencial dos microorganismos ruminais, desviando o pH para a acidez. Esse deslocamento do pH favorece o crescimento de bactérias Gram-positivas, desaparecendo os protozoários e desenvolvendo, primeiro, *Streptococcus bovis* e, depois, *Lactobacillus sp.* os quais vão utilizando e modificando o substrato ruminal, levando a que os processos bioquímicos tendam a manter o meio cada vez mais ácido. As fermentações ruminais vão modificando paulatinamente produzindo uma mudança nas concentrações dos ácidos graxos voláteis. Os ácidos graxos voláteis variam em função do pH: o ácido propiônico aumenta inicialmente, depois aumenta fortemente o ácido láctico, diminuindo o acetato e o β-hidroxibutirato.

A variação diferencial dos ácidos graxos voláteis e, sobretudo, o acúmulo de ácido láctico no rúmen, provoca um aumento na pressão osmótica intrarruminal forçando a passagem de água do compartimento vascular para o pré-estômago, levando o animal a uma desidratação e, conseqüentemente, a um hidro-rúmen. O ácido láctico acumulado no rúmen tende a manter-se como substrato estável que passa ao intestino, onde é absorvido provocando aumento da lactacidemia e uma acidose sangüínea que deve ser compensada pelo organismo. Nos casos graves, a variação do equilíbrio ácido-básico do sangue, leva à morte do animal por acidose metabólica (Figura 7).

As mudanças na concentração dos subproductos terminais do metabolismo do rúmen, trazem como consequência o aumento de uma absorção diferencial dos ácidos graxos que chegam na glândula mamária por via circulatória e induzem mudanças no metabolismo do animal. No organismo se produz uma deposição maior de gordura de reserva, por efeito da insulina que responde ao aumento no aporte de precursores de glicose (ácido propiônico) favorecendo a lipogênese no tecido adiposo.

Em resumo, os efeitos da mudança de pH ruminal para a acidose provocam as seguintes mudanças:

- aumento do ácido propiônico (C<sub>3</sub>)
- efeito insulinotrópico => favorece a lipogênese com relação à lipólise
- insuficiente aporte de ácido acético (C<sub>2</sub>)
- diminuição da biohidrogenação de C<sub>18:2</sub> pelo baixo pH no rúmen
- inibição da neossíntese de AG-trans-insaturados ( $C_{18:1}$ ) na glândula mamária por sua elevada quantidade circulante.

#### Acidose ruminal

- ALIMENTOS PERIGOSOS
- **I** Grãos, frutas, farinhas
- Relação forragem / grão <40 / 60</p>



- MUDANÇAS RUMINAIS
- Mudança da microflora ruminal -> acidófila
- Modificação de AGV
- Passagem de líquido ao rúmen -> desidratação
- F pH ácido ruminal estável -> lactobacillus
- Acidose ruminal →aeidose sangüínea
- Morte do animal

Figura 7. Principais fatores que intervêm na indigestão com acidose.

A consequência destas mudanças da acidose no metabolismo ruminal e no metabolismo geral provocam a **diminuição do teor butirométrico do leite**. Essa diminuição da gordura do leite tem sido denominada síndrome de baixo conteúdo gorduroso do leite (*low milk fat syndrome*) (Engvall, 1980).

O controle da acidose ruminal pode realizar-se utilizando substâncias tamponantes (bicarbonato de sódio e de magnésio) na ração ou mediante utilização de niacina (que aumenta a taxa butiromética no início da lactação), ou colina ou metionina não protegida para melhorar a utilização dos aminoácidos glicoformadores. Mais popularmente utilizados, a rumensina ou os antibióticos, são de preferência pelo crescimento diferencial de microorganismos ruminais.

# **PROTEÍNAS**

# Quantidade e composição.

A qualidade do leite de vaca como produto está condicionada a uma série de fatores de variação que influem na sua composição. A quantidade de proteína total no leite integral cru é de 3,5 % (p/p).

É de interesse separar os diferentes compostos nitrogenados do leite denominados genericamente de proteínas. Esta composição inclui as caseínas chamadas de proteínas "verdadeiras", mas também a albumina e as globulinas (de origem láctea e sangüínea), enzimas, aminoácidos, peptídeos e uréia. Para efeitos produtivos devem considerar-se diferencialmente os seguintes produtos nitrogenados: caseínas, proteínas do soro do leite e nitrogênio não protéico.

As proteínas são sintetizadas pela glândula mamária a partir de aminoácidos precursores e sua secreção é regulada pela célula mamária. Esta célula sintetiza as diferentes proteínas nos ribossomos e no retículo endoplasmático rugoso, mediante uma codificação genética. São conhecidas variantes de algumas proteínas nos bovinos, por exemplo, os alelos A e B das caseínas

beta ou da lactalbumina que apresentam um interesse do ponto industrial pelo rendimento y pelas características físicas que lhe outorgam a diferentes subprodutos (queijos, cremes).

As diferentes frações das proteínas têm significado na fabricação de derivados lácteos, pelo que a sua determinação e quantificação é de interesse industrial. Por uma parte, por sua utilização em subprodutos e, por outra, para evitar ter que pagar como sendo proteína por substâncias nitrogenadas não protéicas, além da detecção de adulterações ou fraudes.

Analisando as proteínas do leite por meio de eletroforese, com géis de poliacrilamida (PAGE), podem determinar-se as diferentes frações que a compõem. São identificadas com facilidade as bandas das seguintes proteínas : lactoferrina (Lf), albumina sérica bovina (BSA), imunoglobulinas séricas de cadeia pesada (Ig-h), caseínas (CN) e suas frações: alfa S1 (CN- $\alpha_{S1}$ ), alfa S2 (CN- $\alpha_{S2}$ ), beta (CN- $\beta$ ) e kappa (CN- $\kappa$ ), as beta-lactoglobulinas (LG), as alfa-lactalbúminas (LA) e algumas frações menores.

A quantificação das bandas de proteínas mediante processo de análise de imagens, permite expressar os resultados médios como porcentagem sobre o total de proteínas da corrida eletroforética de uma amostra de leite mescla. No caso da Tabela 2, as amostras provêm do tanque de 86 estabelecimentos leiteiros e são expressados como médias dos valores percentuais obtidos.

Tabela 2. Valores percentuais das frações protéicas do leite.

	Lf	BSA	Ig-h	$\alpha_{s_1}$	$lpha_{\mathrm{S2}}$	β	κ	LG	LA
Média	4,4	3,3	4,0	28,6	7,4	17,2	8,2	9,9	8,1
DP	1,2	1,3	2,5	6,5	5,2	4,6	3,4	4,1	4,6
CV	27	39	62	23	70	27	41	42	57
n	701	630	614	753	154	752	686	652	460

DP=desvio padrão, CV= coeficiente de variação (%), n= número de amostras (Barros et al., 2001).

Realizando a quantificação das frações de caseína  $CN-\alpha_{S1}$ ,  $CN-\alpha_{S2}$ , beta e kappa calculadas em base 100 obtêm-se os resultados da Tabela 3.

Tabela 3. Valores percentuais das frações das caseínas.

	$lpha_{ m S2}$	$lpha_{\mathrm{S1}}$	β	κ
Média	12,1	46,5	28,0	13,4
n	154	753	752	686

(Barros et al., 2001)

As variações na concentração e as variantes nas suas formas genotípicas das frações de caseínas cobram importância crescente pelo interesse no rendimento dos subprodutos. Por exemplo, o leite proveniente de vacas Holandesas com alelos B da  $CN-\alpha_{S1}$ , da  $CN-\beta$ , da  $CN-\kappa$  e da  $\beta$ -lactoglobulina, produzem 9% a mais de matéria seca de queijo do que vacas com a variante A. Por outra parte, a raça também influi na composição. Assim, a raça Jersey tem uma maior freqüência da variante B da  $CN-\kappa$  que a raça Holandesa (DePeters, 1992).

#### Variações nas proteínas do leite.

Quando se discute sobre as variações das proteínas do leite deve diferenciar-se inicialmente entre as variações na quantidade (g/dia) e na composição (%).

A regulação da secreção permite que a composição das proteínas permaneça relativamente constante, apesar de aumentos no consumo de proteínas pela dieta. O aumento da proteína total do leite em resposta ao aporte da dieta se dá fundamentalmente sobre a base do aumento do nitrogênio não protéico.

O rúmen possui importância no metabolismo protéico da vaca, na medida em que os microorganismos ruminais processam a proteína alimentar integrando-a com sua própria que será depois digerida pelo tubo digestivo. O aporte desta proteína bacteriana para a glândula mamária pode constituir até 60% do aporte em nitrogênio. O restante da proteína da dieta (40%) é aquela que ultrapassa a barreira ruminal e é absorvida pelo duodeno. Assim, as proteínas protegidas passam diretamente para o duodeno, sendo a forma como nutricionalmente aumenta a absorção protéica. São denominadas proteínas protegidas diante da ação das bactérias ruminais aquelas como caseínas ou farelos (soja, colza) ou pelo tratamento com formaldeído ou calor.

O aporte de uréia como fonte de nitrogênio está limitado em sua absorção pelo aporte de energia para permitir a metabolização por parte dos microorganismos ruminais, mas também pode passar por via sanguínea para a glândula mamária e diretamente para o leite, existindo uma forte correlação entre as concentrações no sangue e no leite. Esse nitrogênio não é pago ao produtor naqueles sistemas de pagamento por proteína verdadeira.

O aporte protéico da dieta está estreitamente relacionado com a produção total de leite. O teor de proteínas no alimento, que não é limitante maior na secreção de proteína láctea, intervem aumentando a produção total leite. Esse aumento vem acompanhado do aumento na quantidade total de proteína secretada por dia.

A relação entre proteína e energia da dieta revela um papel preponderante na utilização de ambos os nutrientes, embora às vezes na prática seja difícil diferenciar o efeito de um sobre o outro. Todavia, o manejo da relação entre forragem e concentrado é um elemento importante a levar em conta quando se estabelece o objetivo de aumentar a produção total de leite e seu conteúdo em proteínas.

A relação entre o conteúdo de gordura/proteína do leite é um indicador apropriado para as mudanças na composição do leite referidos com a resposta à dieta, uma vez que, em geral, as respostas do aumento de gordura e de proteína do leite vão em sentidos opostos quando a dieta muda. É conhecido um efeito de depressão das caseínas no leite pelo excesso de gordura na ração.

Um limitante do ponto de vista protéico pode constituir o aporte deficitário de aminoácidos essenciais na dieta (fenilalanina, tirosina, metionina, triptofano), embora a glicose e o acetato possam atuar como precursores para a sua síntese na glândula mamária. Na prática nutricional, a metionina e a lisina são os fatores mais aceitos como limitantes na secreção láctea.

Existem outros efeitos diferentes da dieta que produzem variações nas quantidades de proteínas do leite. É conhecida uma variação sazonal nas proteínas do leite, de forma que no verão se encontram os valores mais baixos, bem como uma diminuição na firmeza do coágulo. Também influi o tempo de lactação observando-se menores teores entre a 5ª e a 10ª semana aumentando paulatinamente no final da lactação.

As alterações na secreção de proteínas ocorrem em carências alimentares severas, em afecções graves da integridade hepática, em parasitismos ou nas afecções inflamatórias da glândula mamária onde diminuem as caseínas e aumentam as proteínas do soro. A influência da mastite subclínica também é de importância por sua prevalência e pela secreção diferencial de proteínas que resulta, por uma parte da reação das células mamárias e, por outra, da atividade proteolítica das enzimas (plasmina) de origem bacteriana que atuam diretamente desde a cisterna da úbere.

#### ESTABILIDADE DO LEITE

A qualidade do leite de vaca também pode ser avaliada mediante a prova do álcool, que consiste na mescla de partes iguais de álcool 70° e leite cru integral. Esta é uma das provas a que é submetido o leite após a ordenha, e é a que determina o aceite ou rejeição por parte da planta industrializadora no momento de recepção, sendo utilizada para medir a estabilidade física do leite.

A prova do álcool é empregada também para medir indiretamente a estabilidade do leite ao tratamento térmico ou ao pH, uma vez que há um paralelismo no comportamento da estabilidade às três provas (álcool, calor, pH). Inicialmente, a prova do álcool foi utilizada pela indústria como uma

medida de pH natural do leite, pela relação que existe entre ambos parâmetros: a acidez produz a perda da estabilidade provocando a floculação das proteínas. A prova do álcool tem sido usada tradicionalmente para classificar os leites de queijaria, isto é, para determinar a sua aptidão à coagulação pela pressão.

Por outra parte, existe uma relação inversamente proporcional entre a estabilidade das proteínas e o teor natural de cálcio iônico do leite. A prova do álcool é sensível à variação do cálcio iônico por provocar uma diminuição da solubilidade desse mineral.

Esta alteração na estabilidade do leite é conhecida desde algum tempo. Em Utrecht, desde a década de 1930, tinha sido denominada de síndrome de alteração do leite (*Utrecht abnormality of milk*).

Tem sido constatada uma certa influência da época do ano, sendo a alteração aparentemente mais frequente nos meses de outono, na mudança de estação de inverno para primavera e também relacionada com períodos de seca. Existe uma evidente relação entre a positividade da prova e o período de lactação da vaca, uma vez que se constata mais frequentemente no início e no fim da lactação (Barros, 1999).

Empiricamente, têm sido relacionadas essas variações com dietas ou pastos ricos em cálcio, com deficiências ou desbalanços minerais (Ca, P, Mg), com mudanças bruscas da dieta, sendo inconstante a resposta a suplementações minerais.

O teor de cálcio ionizado está diretamente relacionado com a positividade da prova do álcool, encontrando-se também variações com relação a outros componentes do leite (Tabela 4).

Esta alteração é importante por seu aparecimento e desaparecimento espontâneo que provoca perdas econômicas para o produtor, devido ao pagamento diferencial do leite, e para a indústria, devido à má qualidade na terminação de subprodutos (queijos) que não podem ser utilizados em processos que utilizem aquecimento. O inconveniente adicional para o produtor é a falta de soluções concretas que recebe em resposta ao pagamento baixo do seu leite.

Tabela 4. Variações da composição do leite individual em função da positividade à prova do álcool.

Componente	Álcool ne	gativo (n=146)	Álcool posi	Álcool positivo (n=70)		
Componente	Média	DP	Média	DP	Teste t (p< )	
Gordura %	3,40	0,89	3,95	0,96	0,0001	
Proteínas %	3,23	0,38	3,49	0,64	0,0002	
Lactose %	4,84	0,28	4,65	0,28	0,0000	
SNG %	8,68	0,47	8,75	0,71	n.s.	
ST %	12,16	1,18	13,04	1,76	0,0001	
cels/ml	210152	323636	319175	707681	n.s.	
Crioscopia °C	-0,52	0,01	-0,53	0,02	0,016	
Bactérias/ml	563079	1196334	119500	141794	n.s.	
Ca++ g/l	0,098	0,04	0,117	0,03	0,011	
рН	6,59	0,61	6,67	0,14	n.s.	

SNG %= sólidos não gordurosos, ST%= sólidos totais, cels/ml= células somáticas/ml, DP= desvio padrão, Teste t (p<)= Teste de Student, n.s.= não significativo Barros et al. (2000).

# CONCLUSÃO

Como conclusão, deve ser enfatizado o interesse que tem o conhecimento e o controle dos fatores metabólico-nutricionais sobre a composição do leite. Particularmente, porque é uma área de

trabalho comum de várias disciplinas relacionadas com a produção leiteira, onde devem envidar-se esforços para melhorar o produto por sua importância direta na saúde animal e na nutrição humana. O monitoramento da composição do leite é um elemento importante na prevenção e no diagnóstico de alterações que afetam a produção leiteira e a rentabilidade desse setor primário da economia.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barros L (1987). Perfiles metabólicos. Estudio de cinco años de aplicación en el Uruguay. XVI Jornadas Uruguayas Buiatría, Paysandú:E-1.
- Barros L, Denis N, González A, Núñez A (1998). Ionic calcium related to alcohol test in milk. *10th International Conference on Production Diseases in Farm Animals*, Utrecht, Holanda, P10 : 144.
- Barros L, Denis N, González A, Núñez A (1999). Prueba del alcohol en leche y relación con calcio iónico. *Prácticas Veterinarias*, 9 : 315.
- Barros L, Denis N, Núñez A, González O, Galain C, De Torres E, González P (2000). Variaciones de la leche y prueba del alcohol. *XXI World Buiatrics Congress*, Punta del Este, Uruguay: 577.
- Barros L, Ceretta ME, González P (2001). Determinación de fracciones proteicas de leche de tambo por electroforesis. *7º Congreso Nacional de Veterinaria*, Montevideo, Uruguay (en prensa).
- Davies D, White J (1958). The relation between the chemical composition of milk and the stability of the caseinate complex. II. Coagulation by ethanol.. *J. Dairy Res.* 25 : 256-266.
- De Peters E, Cant J (1992). Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: A review. *J. Dairy Sci.* 75, 8: 2043-2070.
- Donnelly W, Horne D (1986). Relationship between ethanol stability of bovine milk and natural variations in milk composition. *J. Dairy Res.* 53, 1: 23-33.
- Donnelly W, Barry G (1983). Casein compositional studies. III Changes in Irish milk for manufacturing and role of milk proteinase *J. Dairy Res.* 50: 433-441.
- Engvall A (1980). Low milk fat syndrome in Swedish dairy cows. Acta vet. Scan., Suppl. 72: 1-124.
- Enjalbert F (1994). Biosynthèse des constituants du lait chez la vache. *Rec. Méd. Vét.* 170, 6/7 : 353-358.
- Guillou H, Pelissier J, Grappin R (1976). Méthodes de dosage des protéines du lait de vache. *Le Lait* 66: 143-175.
- Hoover W, Miller T (1996). Feeding for maximum rumen function. *Mid-South Ruminant Nutrition Conference Proceedings*, Ed. Eller R. Jordan: 33-46.
- Horne D, Parker T, Donnelly W, Davies D (1986). Factors affecting the ethanol stability of bovine skim milk. VII. Lactational and compositional effects. *J. Dairy Res.* 53, 3: 407-417.
- Horne D, Parker T (1981). Factors affecting the ethanol stability of bovine milk. I. Effect of serum phase components. *J. Dairy Res.*, 48: 273-284.
- Horne D, Muir D (1990). Alcohol and heat stability of milk protein. J. Dairy Sci., 73: 3613-3626.
- King J(1979). The effects of ketosis in dairy cows on body weight, milk yield and milk composition. *Br. Vet. J.* 135: 40-43.
- Labarre J (1994). Nutrition et variation du taux de matiéres grasses du lait de vache. *Rec. Méd. Vét.*, 170, 6/7: 381-389.

- Laemmli U (1970). Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T<sub>4</sub>. *Nature* (London), 227: 680.
- McLean D, Graham B, Ponzoni R (1984). Effects of milk protein genetic variants on milk yield and composition *J. Dairy Res.* 51: 531-546.
- Palmquist D, Beaulieu A, Barbano D (1993). Feed and animal factors influencing milk fat composition. *J. Dairy Sci.* 76: 1753-1771.
- Pierre A (1985). Etude de la stabilité du lait à l'alcool. Solubilité du phosphate et du calcium du lait en présence d'alcool. *Le Lait*, 65: 649/650: 201-212.
- Walstra P, Jenness R (1984). Química y física lactológica. Ed. Acribia, Zaragoza. 423p.

# PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE E SUA ASSOCIAÇÃO COM TRANSTORNOS METABÓLICOS E ALTERAÇÕES NA GLÂNDULA MAMÁRIA\*

#### Pastor Ponce Ceballo e Robier Hernández

Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) San José de las Lajas, La Habana, Cuba Tel. 53-64-63145 pastor@censa.edu.cu

# INTRODUÇÃO

Durante varias décadas a análise dos componentes sangüíneos tem sido a forma mais frequente de conhecer e interpretar o estado de saúde da vaca leiteira, basicamente no que se refere a seu estado metabólico. Exceto no caso da mastite, diagnosticada quimicamente através de alterações no leite, doenças como acidose metabólica, alcalose, cetose, hipocalcemia, hipomagnesemia, transtornos ruminais e outras, se sustentam na análise do perfil metabólico sangüíneo, em dados do equilíbrio ácido-básico e do líquido ruminal, e em biópsias de ossos e figado.

Embora sejam bem conhecidos os efeitos de diferentes sistemas e tipos de alimentação, da raça, da época do ano, de fatores fisiológicos e outros, sobre a composição láctea, poucos destes indicadores são utilizados realmente para diagnosticar alterações no estado de saúde da vaca leiteira e, na prática, apenas a determinação de uréia no leite é considerado uma variável efetiva para avaliar possíveis desequilíbrios de energia/proteína na ração. Indicadores como a concentração de lactose, minerais e proteína são considerados pouco variáveis dentro de uma raça com determinado estado fisiológico, embora na prática não seja sempre assim.

A alta especialização produtiva dos rebanhos leiteiros atingida nos últimos anos, gera uma maior demanda de nutrientes, de forma que mudanças relativamente pequenas nas condições ótimas de manejo e alimentação, produzem alterações sensíveis na saúde, entendida no seu conceito mais integral. A produção de vacas leiteiras em ambientes que não se ajustam a seu potencial genético, como é o caso da raça Holandesa e outras altamente especializadas, no trópico, está associada com baixa resposta reprodutiva e alterações na produção e composição de leite.

No presente artigo, é analisada a experiência de Cuba no uso das características físico-químicas do leite como uma ferramenta diagnóstica para conhecer diferentes alterações no estado de saúde dos rebanhos leiteiros, associadas ao estado metabólico.

# COMPONENTES OSMÓTICOS DO LEITE E DESEQUILÍBRIOS NA GLÂNDULA MAMÁRIA

Em condições normais de lactação, o leite é isosmótico com o plasma sangüíneo, isto é, a pressão osmótica do leite devida principalmente à lactose e aos electrólitos sódio, potássio e cloretos, é igual àquela do sangue.

Para manter esta osmolaridade, a variação de um ou mais componentes deve ser compensada por mudanças dos outros componentes em sentido inverso. Geralmente, as concentrações de lactose e potássio diminuem na etapa colostral, na etapa final da lactação e também nos quadros de mastite, enquanto que o sódio e o cloreto aumentam nas mesmas situações. Em condições normais é comum

\_

<sup>\*</sup> PONCE PC, HERNÁNDEZ R (2001). Propriedades físico-químicas do leite e sua associação com transtornos metabólicos e alterações na glândula mamária. 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. Tradução de Félix H.D. González (felixgon@orion.ufrgs.br).

encontrar correlações entre os vários componentes. Entretanto, este comportamento nem sempre se ajusta ao descrito pela literatura científica.

Convém, antes, fazer uma rápida revisão dos mecanismos de regulação dos componentes do leite. A lactose é o principal componente osmótico do leite, sintetizado nas vesículas de Golgi, em um processo endergónico que consome até 70% da glicose circulante no ruminante e, portanto, altamente dependente de energia.

Em nível intracelular, o processo gera um movimento de moléculas de água e íons que determinam a fase aquosa do leite, isto é, o volume de produção diária. Por sua vez, na região basolateral da célula epitelial mamária, existem mecanismos enzimáticos energético-dependentes, como a Na-K-ATPase que intervêm na regulação desses íons e na estabilidade das concentrações percentuais desses componentes no leite.

Deve esperar-se que os desequilíbrios de tipo nutricional, o estresse climático e outros fatores que afetam sensivelmente a disponibilidade de precursores energéticos, se manifestem através de alterações na composição e/ou nas relações desses componentes.

As mudanças fisiológicas na composição do leite que ocorrem no início e no final da lactação ou quando existe um quadro de mastite, são determinadas pelo aumento da permeabilidade entre as uniões celulares, conhecida como a via paracelular. Em condições normais, uma diminuição na síntese de lactose leva concomitantemente a uma diminuição na produção de leite, mas sem alterar sensivelmente a sua concentração, ou a dos íons. A pergunta é se a magnitude destas variações, está associada a outras alterações do metabolismo da vaca leiteira em situações onde os mecanismos energéticos da síntese/secreção são afetados.

Na Tabela 1 mostra-se a composição láctea das raças Holandesa, Zebu e seus cruzamentos nas condiciones de Cuba. Os dados provêm do estudo de 460.800 lactações realizado entre os anos 1978 a 1993. Como esperado, vacas da raça Holandesa e seus cruzamentos mais próximos apresentam uma menor concentração percentual de gordura, proteínas e sólidos totais que a raça Zebu, relacionado com maior volume de produção de leite nas primeiras. Todavia, chama a atenção, que enquanto as concentrações de lactose e sódio são menores, as de potássio são maiores, o que não tem uma clara explicação fisiológica, partindo do princípio que os componentes osmóticos são muito estáveis.

Um aspecto a considerar nestes resultados é que vários estudos sobre balanço alimentar realizados neste período indicam que os animais mais especializados apenas cobriam 75% das necessidades de energia e proteínas na ração, fato que se associa a este comportamento.

Tabela 1. Composição do leite das raças Holandesa, Zebu e seus cruzamentos nas condições de Cuba.

Componentes			Composiçã	io racial*		
Componentes	Holandesa	3/4H-1/4Z	1/2H-1/2Z	3/4H-1/4Z	Zebu	
Gordura	3,32	3,65	4,01	4,10	4,08	4,30
Proteína	3,00	3,20	3,42	3,52	3,54	3,83
Sólidos	11,58	12,18	12,86	13,02	13,14	13,82
Lactose	4,56	4,62	4,73	4,80	4,82	4,85
Sódio	46,0	46,7	47,7	57,7	53,9	55,9
Potássio	166,7	166,1	155,2	137,7	130,4	143,9

<sup>\*</sup>H= raça Holandesa; Z= raça Zebu

Componentes maiores en g%; minerais en mg%.

Em todos os casos houve diferenças significativas (p< 0,05) entre os dois tipos raciais extremos

Estudos controlados em rebanhos da raça Holandesa demonstraram que as concentrações de lactose normalizavam em concentrações acima de 4,7%, quando as condições de alimentação se ajustavam aos requerimentos e também quando diminuíam os fatores de estresse em vacas mantidas em condições de conforto (ar condicionado), diferentemente das mantidas a temperatura ambiente

(32°C). Surpreendentemente, a análise das correlações simples entre as concentrações dos diferentes componentes osmóticos não foram expressivas em vacas Holandesas puras e seus cruzamentos <sup>3</sup>/<sub>4</sub>Holandês com produções superiores a 15 litros diários, mas foram em vacas Zebu e cruzamentos próximos, com produções entre 3 a7 litros diários de leite.

Este comportamento é igual ao observado no caso das concentrações de lactose, sódio e potássio (Tabela 2), e indicam a presença de alterações nos mecanismos de regulação em nível da glândula mamária e, especificamente, na disponibilidade de energia, quer seja para a síntese de lactose, quer para a movimentação de eletrólitos.

Tabela 2. Correlações entre lactose e eletrólitos no leite de vacas das raças Holandesa, Zebu e seus cruzamentos nas condições de Cuba.

Grupo racial	lactose-sódio	lactose-potássio	sódio-potássio
Holandês	$-0.086^{\text{ns}}$	$-0.024^{\text{ns}}$	$0.14^{\text{ns}}$
¾ Holandês	$-0.20^{\text{ns}}$	$-0.091^{\text{ns}}$	$0.15^{\text{ns}}$
½ Holandês	-0,31**	0,0,23*	-0,25**
1/4 Holandês	-0,404**	$0,162^{ns}$	$-0.13^{\text{ns}}$
Zebu	-0,68***	0,47***	-0,46***

ns= no significativo

diferença significativa \*(p<0,05), \*\* (p<0,01), \*\*\* (p<0,001)

A relação entre a composição láctea com os diferentes sistemas de alimentação estudados no quinqüênio 1985-1990, aporta novos elementos sobre o tema. Tais sistemas foram divididos em dois grandes grupos durante a época da seca: aqueles que cobriram os requerimentos de consumo de matéria seca, proteína e energia em vacas Holandesas (pastagem Estrela fertilizada e alimento concentrado, banco de proteína com Glicinea, uso de pastoreio combinado com a leguminosa Leucaena), e aqueles sistemas que não cobriram os requerimentos (cana de açúcar em forragem como dieta básica, silagem de gramíneas, pastagem de gramíneas sem irrigação). No primeiro grupo de sistemas encontraram-se concentrações normais de lactose e de íons, bem como correlações entre tais componentes no sentido esperado, diferentemente do segundo grupo de sistemas de alimentação, onde não se obtiveram essas relações.

Neste caso foi estudado também o comportamento do índice proteína/gordura e as correlações entre lactose e produção de leite. Diferente do relatado na literatura, no sentido que não existe relação entre as concentrações de lactose e a produção de leite, neste caso foi encontrada uma correlação altamente significativa nos três sistemas que tiveram como dieta básica forragem de cana, silagem de gramíneas e pastagem de seca (*secano*), os quais não cobriram os requerimentos de nutrientes básicos em animais especializados em produção de leite. Pelo contrário, o índice proteína/gordura foi muito menor, o que se relaciona com limitação na síntese de proteínas e/ou gordura (Tabela 3).

Tabela 3. Índices de proteína/gordura e coeficientes de correlação entre concentração de lactose e produção de leite em vacas leiteiras em Cuba.

Sistema de alimentação	Índice proteína/gordura	Correlação lactose/produção de leite
Estrela fertilizado	0,910	$0.22^{\rm ns}$
Banco de Glicinea	0,922	0,18 <sup>ns</sup>
Banco Leucaena	0,922	$0.19^{ns}$
Forragem de cana	0,855	0,50*
Silagem	0,878	0,37*
Pastoreio de secano	0,898	0,40*

Um resumo destes resultados indica que as concentrações dos componentes osmóticos do leite e de suas relações podem ser utilizados como indicadores das alterações no balanço nutricional da vaca leiteira, e dos mecanismos de síntese e secreção em nível de glândula mamária. Especial significado têm as baixas concentrações de lactose, a presença de correlações positivas entre este componente e a produção de leite e a ausência de relações entre os componentes osmóticos.

# ESTUDOS SOBRE A ACIDEZ TITULÁVEL, A PROVA DO ÁLCOOL E O PESO ESPECIFICO DO LEITE

A prova mais simples na recepção de leite em uma planta é a mescla por partes iguais de leite e de álcool do 68-75%, de tal forma que se existir algum tipo de coagulação, a amostra é rejeitada por não ser apta para o tratamento térmico e interpretada como *leite ácida*.

Em outro sentido, a prova mais simples para determinar adulteração por aguado é o uso do lactodensímetro de Quevenne, que mede, de forma indireta, o peso específico do leite. Em múltiplas ocasiões, uma amostra de leite positiva à prova do álcool tem um pH alto e/ou uma acidez titulável baixa, bem como uma densidade abaixo de 1,029, sem que existam evidências de mastite, aguado, ou estados fisiológicos que expliquem tal comportamento. Estas incongruências levam a confusões e, ainda, a penalizações sem que o produtor possa identificar o que acontece no rebanho.

Com o objetivo de avaliar a relação entre estes indicadores, foi realizado um estudo em 227 propriedades leiteiras da província de Havana, no período de seca do ano 1993, que incluiu mesclas de leite representativas de 15.000 vacas em ordenha. Em todos os casos foi presenciada a ordenha para excluir possível adulteração por aguado e também foi conferida a presença de mastite, bem como um balanço geral do estado nutricional dos rebanhos. Alguns dos resultados mais significativos aparecem na Tabela 4:

Tabela 4. Relação entre prova do álcool com valores de acidez titulável (% de ácido láctico) e densidade do leite (g/ml) em condições de Cuba (em % de animais).

Acidez titulável	Prova do álcool	Densidade
32% entre 0,10-0,129	79% positivas	76,7% menor de 1,029
68% entre 0,13-0,17	3,1% positivas	8% menor de 1,029
2,4% mayor de 0,17	17,9% positivas	15,3% menor de 1,029

Em todos os casos foram excluídas amostras provenientes de mesclas que resultaram positivas à prova do California Mastitis Test (CMT) em mais de uma cruz. Com relação ao estado nutricional dos rebanhos, foi observado que em mais de 85% deles, apenas cobria entre 50 a70% das necessidades básicas de alimentação e que, em geral, tinham uma pobre condição corporal, pelo qual podiam estar afetados em seu estado metabólico, embora não fossem realizadas provas que o demonstrassem. Chama a atenção que mais de 50% das amostras resultaram positivas à prova do álcool, mas com uma acidez abaixo de 0,13 g% de ácido láctico, o que por sua vez coincidiu com um peso especifico baixo.

Uma observação similar foi realizada no ano 1996 em 10 fazendas com vacas cruzadas 5/8H-3/8Z, onde foram incluídas observações do pH e do ponto crioscópico. A situação se repete e a maior parte das amostras que tiveram acidez deprimida foram positivas à prova do álcool, adicionado ao fato que mostraram valores do ponto crioscópico abaixo de 520 m°C e de pH superiores a 6,70. Essas observações foram realizadas entre os meses de março-abril quando ocorre maior escassez de alimentos devido à seca e as vacas têm pobre condição corporal (Tabela 5).

Em conjunto, esses resultados confirmam que nem sempre a causa da positividade à prova do álcool está associada com alta acidez titulável do leite, o que faz necessária uma análise particular de cada caso. Igualmente, valores deprimidos do peso específico nem sempre se relacionam com a adição de água ao leite e que existem outros fatores, como o estado de alimentação e o conseqüente estado metabólico, que podem explicar tal comportamento.

Tabela 5. Valores de acidez (% de ácido láctico), prova do álcool, densidade (g/ml), ponto crioscópico (m°C) e pH de vacas leiteiras em Cuba.

nº da fazenda	Acidez	Prova do álcool	Densidade	Ponto crioscópico	pН
3	0,135	negativa	1,0295	538	6,68
4	0,13	negativa	1,0298	533	6,70
6	0,12	positiva	1,0287	523	6,72
7	0,11	positiva	1,0280	518	6,73
28	0,11	positiva	1,0290	513	6,76
33	0,13	negativa	1,0295	531	6,75
34	0,12	positiva	1,0273	517	6,75
36	0,12	positiva	1,0285	513	6,70
47	0,12	negativa	1,0290	525	6,84
53	0,12	positiva	1,0295	518	6,83

# SÍNDROME DO LEITE ANORMAL:RELAÇÃO ENTRE A COMPOSIÇÃO LÁCTEA E O ESTADO METABÓLICO

A presença de alterações na composição láctea e sua perda para o tratamento industrial, observado com maior freqüência durante a época da seca naquelas zonas de Cuba onde se localizam as raças leiteiras especializadas, é um evento mais freqüente a partir do ano 1990, quando aumentou a limitação em alimentos no período da seca.

A denominação de Síndrome do Leite Anormal (SILA), estabelecida por Ponce e colaboradores em 1996, sustenta-se no conjunto de resultados acumulados em Cuba durante mais de 20 anos, e propõe que muitas destas alterações estão associadas a múltiplas causas relacionadas com a alimentação e maior demanda nutricional das raças leiteiras especializadas, e se expressam em diversas alterações do leite.

Em termos gerais foi denominada SILA, o conjunto de alterações nas propriedades físico-químicas do leite, que causam transtornos nos processos de elaboração de derivados lácteos, em seus rendimentos e/ou a qualidade final deles, os quais estão associados a transtornos físiológicos, metabólicos e/ou nutricionais com implicações nos mecanismos de sínteses e secreção láctea em nível da glândula mamária.

Estudos precedentes demonstraram que os rebanhos leiteiros com quadro de SILA tinham também pobre condição corporal, quadros de acidose metabólica e baixo pH ruminal, que podia ser corrigido com formulações de aditivos capazes de estabilizar e ativar a função ruminal e o metabolismo em geral. Os critérios estabelecidos para identificar um quadro de SILA se descrevem na Tabela 6.

O quadro de SILA foi replicado de forma experimental utilizando um modelo que inclui forragem de cana de açúcar, melaço e subproduto da cana (*bagacillo*)como dieta básica em vacas Holandesas, partindo do princípio que se trata de uma dieta com elevado conteúdo de carboidratos facilmente fermentáveis e com baixo conteúdo de nitrogênio.

Tabela 6. Critérios para definir um quadro de SILA.

Tipo de Alteração	Indicador de alarme		
	(a) acidez titulável menor a 0,12 g%; (b) prova do álcool positiva;		
Instabilidade térmica	(c) diminuição no conteúdo de sólidos; (d) relação		
mstabilidade termica	proteína/caseína menor de 75%; (e) alto conteúdo de uréia e NNP;		
	(f) gordura variável; (g) pH maior de 6,75		
Alteração em sólidos	(a) proteína bruta menor de 2,90%; (b) caseína menor de 2,20%;		
Alteração em sondos	(c) lactose menor de 4,6%; (d) ponto crioscópico < 420 m°C		
Dagaguilíbria minaral	(a) cálcio normal; (b) fósforo menor de 80 mg%; (c) Magnésio		
Desequilíbrio mineral	menor de 9 mg%; (d) potássio maior de 150 mg%		

Foram estabelecidos três grupos experimentais: (a) um grupo controle consumindo pastagem e forragens, concentrados e menos de 20% de forragem de cana cobrindo o total dos requerimentos de consumo de matéria seca, energia e proteínas; (b) um grupo que recebeu 50% do consumo total de matéria seca em forragem de cana e *bagacillo* e o resto em forragens e concentrado, e (c) um grupo que recebeu 80% em forragem de cana e *bagacillo*. Os grupos experimentais cobriram seus requerimentos de matéria seca, energia e proteínas em menos de 80 e 50 % respectivamente, com o objetivo de provocar alterações metabólicas, basicamente acidose e mudanças no rúmen. Cada grupo teve 10 vacas, com número e tempo de lactações distribuídas homogeneamente. Foi controlado o estado de saúde da úbere e a condição corporal. Foram feitas amostragens semanais de leite e avaliação do equilíbrio ácido-básico no início, meio e fim do experimento. Alguns dos resultados mais significativos constam nas Tabelas 7 e 8.

Tabela 7. Propriedades físico-químicas do leite antes e durante a replicação experimental de SILA.

Indicador	Antes	SILA (30 dias após)
Acidez (g%)	0,145	0,125
Densidade (g/ml)	1,0295	1,0285
Prova do álcool	negativa	positiva (75%)
Prova da ebulição	negativa	positiva
Citrato (mg%)	257	330
Ponto crioscópico (m°C)	527	511
Relação proteína/caseína (%)	78,5	71,3

Tabela 8. Conteúdo de proteína bruta e caseína nos grupos experimentais durante a replicación experimental de SILA.

Cwan	Proteína (%)		Caseína (%)	
Grupo —	Início	Final	Início	Final
Controle	3,06 <sup>a</sup>	3,01 <sup>a</sup>	2,41 <sup>a</sup>	2,31 <sup>a</sup>
50% de requerimentos	3,08 <sup>a</sup>	2,82 <sup>b</sup>	2,40 <sup>a</sup>	2,11 <sup>b</sup>
80% de requerimentos	3,00°	2,80 <sup>b</sup>	2,37ª	2,04 <sup>b</sup>

p<0,05: letras iguais não possuem diferença significativa

Em ambas as tabelas evidenciam-se as alterações nas características físico-químicas do leite correspondendo com os estudos de campo, relatados anteriormente. Da mesma forma, foi verificada uma diminuição nas concentrações de lactose, a qual teve relação positiva com a produção láctea. As concentrações de gordura, embora sofressem diminuição, esta não foi significativa, o que pode estar relacionado com a alta variabilidade deste componente (Tabela 9).

Tabela 9. Concentração de gordura e lactose durante a replicação experimental de SILA.

Cruno	Gordura (%)		Lactose (%)	
Grupo –	Início	Final	Inicio	Final
Controle	3,51 <sup>a</sup>	3,42ª	4,75°	4,75°
50% de requerimentos	3,61 <sup>a</sup>	3,56ª	4,64ª	4,53 <sup>b</sup>
80% de requerimentos	3,64ª	3,49 <sup>b</sup>	4,69 <sup>a</sup>	4,56 <sup>b</sup>

p<0,05: letras iguais não possuem diferença significativa

A produção de leite diminuiu 44 e 31%, respectivamente, nos grupos tratados, com relação ao grupo controle, o que junto à perda na condição corporal, indicam um estado de desnutrição. Esta situação é muito comum durante os períodos secos na maior parte dos países da América Latina e o Caribe, cujos rebanhos dependem essencialmente da alimentação a base de pastos.

O estudo de alguns indicadores hematológicos e do equilíbrio ácido-básico no início do experimento demonstram que os animais se encontravam com adequada homeostase. Entretanto, assim que se estabeleceu a SILA estes valores sofreram dramáticas modificações para os animais que se encontravam com dietas ajustadas, mas não para o grupo controle (Tabelas 10 e 11).

Tabela 10. Indicadores hematológicos e do equilíbrio ácido-básico no início do experimento.

Indicador	Intervalo normal	Controle	50% de requerimentos	80% de requerimentos
Hemoglobina	8,0-15,0 g/dl	8,66	8,66	8,68
pH sangüíneo	7,35-7,50	7,36	7,39	7,35
EBS*	-2,5 a 2,5 mmol/l	1,85	2,3	1,13
HCO <sub>3</sub>	24 - 30 mmol/l	26,7	26,9	26,1

\*EBS= excesso de base: HCO<sub>3</sub>= bicarbonato

Tabela 11. Indicadores hematológicos e do equilíbrio ácido-básico durante o aparecimento de SILA nos grupos tratados.

Indicador	Intervalo normal	Critério de alteração	% vacas afetadas
Hemoglobina	8,0-15,0 g/dl	≤ 8,0	40
pH sangüíneo	7,35-7,50	≤ 7,35	100
EBS*	-2,5 a 2,5 mmol/l	≤ -2,5	70
HCO <sub>3</sub>	24 - 30 mmol/l	≤ 24	92

\*EBS= excesso de base: HCO<sub>3</sub>= bicarbonato

O estudo de alguns indicadores hematológicos no momento do aparecimento da SILA indica que por volta de 40% dos animais apresentou anemia e que 100% apresentava franca acidose metabólica, uma vez que os níveis de pH sangüíneo estavam abaixo do limite mínimo (Tabela 11). Uma dieta desbalanceada pode condicionar o aparecimento de animais anêmicos. A suplementação com alimentos ricos em carboidratos de fácil digestão, que constituam mais de 50% do consumo diário, determina uma marcada proliferação de microorganismos amilolíticos, que leva a uma elevada produção de ácidos graxos voláteis (AGV). Quando esta situação se mantém, ocorre brusca

queda do pH ruminal e diminuição dramática de grandes setores da flora ruminal, comprometendo a fisiologia animal, levando a um quadro de acidose metabólica.

Em um segundo experimento, foram utilizadas três formulações para corrigir a acidose, aplicadas a um rebanho de 24 vacas diagnosticadas com SILA. Tais formulações continham diferentes concentrações de bicarbonato de sódio, zeolita, fosfato de cálcio, carbonato de cálcio, espirulina e uréia. As dietas dos grupos foram ajustadas de modo a manter um balanço adequado e cobrir os requerimentos diários na base de pastagem, forragem fresca e cana de açúcar. Os resultados se mostram na Tabela 12.

Tabela 12. Indicadores do equilíbrio ácido-básico em vacas afetadas por SILA e após suplementação com formulações corretivas.

Indicador	Intervalo normal	Início	Final (21 dias)
Hemoglobina	8,0 -15,0 g/dl	8,2	9,2
pH sangüíneo	7,35 – 7,45	7,25	7,42
HCO <sub>3</sub>	23 - 30 mmol/l	22,16	26,0
EBS*	- 2,5 a 2,5 mmol/L	- 3,94	1,68

<sup>\*</sup>EBS= excesso de base: HCO<sub>3</sub>= bicarbonato

Dos resultados é evidente a presença de um quadro de acidose ao início do experimento e o efeito restaurador das formulações sobre o estado metabólico, o que se corresponde com a normalização dos indicadores físico-químicos do leite, que se mostram na Tabela 13.

Tabela 13. Mudanças nas propriedades físico-químicas do leite durante a instauração de SILA e após a aplicação de formulações corretivas.

instauração uc k	instauração de SILA e apos a apricação de formulações corretivas.					
Indicador	SILA	Recuperação				
Acidez (g%)	0,125	0,145				
Densidade (g/ml)	1,0285	1,0295				
Prova do álcool	positiva (75%)	negativa				
Prova de ebulição	positiva	negativa				
Ponto crioscópico (m°C)	511	514				
Uréia (%)	3,54	3,74				

Este efeito também foi evidente na recuperação das concentrações de proteína bruta, caseína e, em geral, sobre os sólidos não gordurosos e totais do leite, conforme mostrado na Tabela 14.

Tabela 14. Conteúdo de proteína e sólidos não gordurosos (SNG) no leite de grupos de vacas submetidas a formulações corretivas de SILA.

Chuna	Proteína (%)		<b>SNG</b> (%)	
Grupo	Início	Final	Início	Final
Formulação A	2,88ª	$3,29^{\rm b}$	8,10 <sup>a</sup>	8,65 <sup>b</sup>
Formulação B	2,81 <sup>a</sup>	3,16 <sup>b</sup>	8,04 <sup>a</sup>	8,43 <sup>b</sup>
Formulação C	2,81 <sup>a</sup>	$3,06^{\rm b}$	8,08°	8,39 <sup>b</sup>
Formulação D	2,86°	$3,06^{\rm b}$	8,10 <sup>a</sup>	8,50 <sup>b</sup>

p<0,05: letras diferentes possuem diferença significativa

No caso da lactose, só foram observadas variações significativas nas formulações A e D, onde ocorreu aumento. No resto, houve uma leve tendência a diminuição na B e aumento na C (Figura 1). Em todas as formulações se manifestou uma recuperação na produção de leite, flutuando desde 1,4 litros até 2,2 litros diários por vaca.

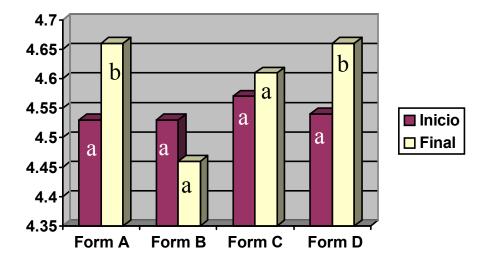


Figura 1. Comportamento da concentração de lactose (%) no leite durante a aplicação de formulações corretivas de SILA em vacas leiteiras. Letras iguales não possuem diferenças significativas (p <0,01).

# AS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE COMO CRITÉRIO DIAGNÓSTICO DE TRANSTORNOS METABÓLICOS E DA GLÂNDULA MAMÁRIA

Tanto para a análise da composição láctea como para os estudos metabólicos, existem múltiplas provas e equipamentos automatizados. Os ensaios mais simples e sistemáticos para pesquisar a qualidade do leite nos países menos desenvolvidos são a densidade, a acidez titulável e a prova do álcool na plataforma da fábrica. A prova mais simples para diagnosticar a mastite subclínica ou o conteúdo de células somáticas é a conhecida como California Mastitis Test (CMT).

Um primeiro problema é que poucos laboratórios contam com equipamentos automáticos infravermelhos como o tipo *Milko-scan* ou contadores eletrônicos de células somáticas. As vezes nem sempre se dispõe de um espectrofotômetro e, menos ainda, de um equipamento tipo ABL de *Radiometer*, para determinar o equilíbrio ácido-básico ou de absorção atômica para a análise mineral. Por outra parte, a obtenção de amostras de sangue é um problema em termos de manipulação dos animais e conservação, transporte e processamento da amostra.

Existem múltiplas evidências da relação entre a composição e outras propriedades físico-químicas do leite com a presença de transtornos metabólicos e da lactação. A coleta de amostras de leite, seja individual ou de mesclas, é muito mais simples e de menor custo que a de sangue, sendo um excelente fluido biológico para o diagnóstico. O esquema de estudo proposto para a análise de SILA e dos componentes osmóticos do leite pode ser um modelo para diferentes transtornos da saúde e de deficiências nutricionais da vaca leiteira.

Entretanto, para os que não contam com outros meios de análise, um sistema rápido e simples para o diagnóstico qualitativo da SILA e de outros transtornos associados, em condições de campo, pode ser o seguinte:

#### Bateria de 5 indicadores.

1. Prova do álcool a 75% em placa de Petri ou tubo de ensaio;

- 2. Acidez titulável em tubo de ensaio;
- 3. Indicador de pH com tira reagente: mudança de cor a 6,75 ou maior;
- 4. Densidade com lactodensímetro de Quevenne, com ajuste de temperatura;
- 5. Prova de CMT ou equivalente.

#### Categorías:

Excludente, Negativo, Duvidoso, Positivo.

#### Interpretação.

#### EXCLUDENTE:

- se o CMT for positivo com duas ou mais cruzes, excludente por mastite;
- se a densidade for menor de 1,0270, excludente por adulteração ou por aguado.

#### POSITIVO:

- Se a prova do álcool for positiva e a acidez for menor de 0,13g%, é SILA positivo;
- · Se o pH for alto e a acidez titulável menor de 0,13g%, é SILA positivo;
- Se a prova do álcool for positiva e o pH alto, é SILA positivo.

*DUVIDOSO*: Quando uma das três provas básicas (acidez titulável, álcool, pH) for positiva. *NEGATIVO*: Nenhuma prova positiva.

Para a interpretação deste simples sistema é conveniente:

- (a) descartar antes que não exista mastite ou uma condição fisiológica que aumente o número de células somáticas (colostro), pois nessas condições a tendência é ter pH alto, acidez baixa e prova de álcool positiva;
- (b) descartar que não existe adulteração por aguado porque diminui a acidez e a densidade, embora não afeta sensivelmente a prova do álcool
- (c) considerar que se a prova do álcool é positiva, esta condição se relaciona com alta acidez titulável ou alto conteúdo de sólidos em vacas recém ordenhadas. Mas se a acidez titulável for baixa, então o leite não é ácido e tende à alcalinidade. Se o pH for elevado e a acidez titulável é baixa, tem a mesma interpretação. Uma condição similar ocorre quando a prova do álcool é positiva.

# DISCUSSÃO GERAL

- As características físico-químicas do leite constituem uma importante ferramenta analítica para o diagnóstico de transtornos metabólicos e do estado nutricional da vaca leiteira.
- As concentrações dos componentes osmóticos do leite, especialmente a lactose e suas relações entre si e com a produção láctea, podem ser utilizados para identificar situações de desbalanço energético e de estresse.
- A positividade à prova do álcool e a baixa densidade do leite, nem sempre estão associadas com leite ácido e aguado, respectivamente, e podem utilizar-se junto a outras análises simples como evidências de alterações na lactação.
- A Síndrome do Leite Anormal (SILA) se caracteriza por diminuição nos sólidos do leite, diminuição na sua estabilidade térmica e na sua capacidade tamponante, e alterações na aptidão para o processamento industrial. Estas alterações podem ser agrupadas e classificadas conforme a indicadores de alarme, obtidos a partir de limiares pré-estabelecidos com base em critérios de normalidade de cada país, região e inclusive rebanho.

- A SILA é um fenômeno de causa multifatorial e ainda não muito bem identificado em todos os casos. Os desbalanços em energia e proteína associados às características da ração, com implicações no ambiente ruminal e comprometimento do metabolismo geral (acidose), são os fatores de maior consideração no caso de Cuba. A síndrome aumenta em gado de alto potencial genético e em épocas de estresse nutricional e/ou calórico. O quadro pode ser replicado em condições experimentais.
- Nos quadros de SILA, as limitações de energia disponível no tecido epitelial mamário afetam a síntese e secreção dos componentes lácteos, fundamentalmente de caseína, lactose e os principais macrominerais implicados nestes processos, basicamente fósforo e magnésio. É provável que este fenômeno possa ser potencializado por causas genéticas, associadas aos tipos de K-caseínas e outras proteínas lácteas.
- No caso mais geral de Cuba, a diminuição no consumo de carboidratos facilmente fermentáveis, o aumento de forragem verde, o aumento de proteína verdadeira, de preferência *by- pass*, e o uso de substâncias reguladoras do ambiente ruminal, produzem uma recuperação entre 7-21 dias após as mudanças na alimentação.
- São propostas várias alternativas de uso dos componentes lácteos, como vias para diagnosticar os transtornos metabólicos e da lactação em geral.

#### **BIBLIOGRAFIA CONSULTADA**

- CENLAC (1995). *Manual de procedimientos técnicos operacionales*. Centro de Ensayos para el Control de la Calidad de la Leche y Derivados Lácteos CENSA, La Habana.
- Delaquis MA, Block E (1995). Dietary cation-anion difference, acid-base status, mineral metabolism, renal function and milk production of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 78(10): 2259-2284.
- Elliot JP, Drackley GC, Shanks RD (1995). Utilization of supplemental fat by dairy cows fed diets varying in content of non-structural carbohydrates. *J. Dairy. Sci.* 78(10):1512-1525.
- García L R, Elias A, Menchaca M (1992): Uso de la Zeolita en vacas lecheras. II. Efectos en la producción de leche. *Rev. Cub. Cienc. Agríc.* 26:133.
- Le Ruyet P, Tucker WB (1992): Ruminal Buffers: Temporal effects on buffering capacity and pH on ruminal fluid from cows fed high concentrate diet. *J. Dairy Sci.* 75: 1069 1077.
- Linzell JL, Peaker M (1971). The distribution and movements of carbon dioxide, cationic acid and bicarbonate between blood and milk in the goat. *J. Physiol.* 244: 771-779.
- Macheboeuf D, Coulon JB, D'Hour P (1993). Effect of breed, protein genetic variants and feeding on cows milk coagulation properties. *J. Dairy Res.* 60: 43-54.
- Mejías R, García LR, Herrera J (1991). Niveles de suplementación con calcio y fósforo en vacas de primer parto en pastoreo. *Rev. Cub. Cienc. Agríc.* 25:261.
- Oconnor AM, Beede DK, Wilcox CJ (1988). Lactation and responses to dietary magnesium, potassium and sodium during winter in Florida. *J. Dairy Sci.* 71:971-981.
- Oldaham JD (1991). Magnitude and implication of changes in milk composition through manipulation of nutrition, management and physiology. *International Dairy Congress*, p. 714-721.
- Pecorari M, Fossa E, Avanzini G, Marian P (1984). Milk with abnormal coagulation: Acidity, chemical composition and observation on the metabolic profile of the cow. *Sci. Tec. Latt. Cas.* XXXV: 4:263-278.

- Ponce P (1983). Precipitaciones anormales en placas de pasteurizadores en una planta procesadora de leche durante el período de transición seca-primavera. *Informe final de Servicio Empresa Láctea Habana*-CENSA, junio/1983.
- Ponce P (1996). Garantía de la calidad de la leche: Enfoques actuales y perspectivas en América Latina. *III Taller Internacional sobre calidad de la leche*. Universidad Austral de Chile, Valdivia-Chile. 9-11 octubre/96. p.11.
- Ponce P, Rivero R, Capdevila J (1990). Influencia de varios sistemas de alimentación sobre la composición láctea: Sistema en base a caña como forraje. *Informe final al programa*. Academia de Ciencias de Cuba, marzo/1990.
- Ponce P, Bell L (1986). Estudio de la lactancia en vacas de la raza Holstein, Cebú y sus cruces en Cuba. *Rev. Salud Anim.* 8(1): 73-88.
- Ponce P, Bell L (1985). Composición de la leche en vacas Holstein-Friesian en diferentes condiciones de explotación. *Rvta. Cub. Cienc. Vet.* 16: 265-270.
- Ponce P, Villoch-López MG, Capdevila J, Rivero R, García-López R (1992). *I Taller Internacional sobre Calidad de la Leche*. UAM-X CENSA. pág. 92-134. Mayor 26-29. La Habana.
- Ponce P (1999). Caracterização da síndrome do leite anormal: Um enfoque das suas possíveis causas e correção. *Anais do 4º Simpósio Internacional sobre Produção Intensiva de Leite*. Caxambu, 22-24 de julho, 1999. p. 61-76.
- Sutton JD(1989). Altering milk composition by feeding. J. Dairy Sci. 72(10):2801-2814.
- Villoch A, Martínez E, Rivero R, Ríos I, García L, Ponce P (1991). Influencia de diferentes condiciones de alimentación sobre la producción y composición de la leche *Rev. Salud. Anim.* 13: 48-55.
- Yoshida S (1980). Studies in the Utretch abnormality of milk in the Miyuki Dairy Farm. *J. Jap. Appl. Biol. Sci. Hir. Univ.* 19: 39-54.

# PROGRAMA INTEGRAL PARA MELHORAR A PRODUÇÃO E A QUALIDADE DO LEITE EM CUBA\*

**Pastor Ponce Ceballo** 

Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) San José de las Lajas, La Habana, Cuba Fone. 53-64-63145; pastor@censa.edu.cu

#### **RESUMO**

O Programa Integral para Melhorar a Produção e Qualidade do Leite em Cuba, conhecido como PROCAL, reúne em oito ações fundamentais, os principais resultados obtidos pelo Centro Nacional de Sanidade Agropecuária (CENSA) nos últimos 10 anos neste campo, quanto à aplicação de produtos, serviços, tecnologias, assessoria e capacitação, dirigidos essencialmente ao segmento de produção e captação do leite. O programa se caracteriza por sua simplicidade e aplicabilidade e por distinguir claramente as vantagens econômico-produtivas, de tal forma que concentre o interesse e a real participação dos produtores.

O PROCAL se aplica na sua variante intensiva (todos seus pontos) em pouco mais de 300 propriedades leiteiras de 7 províncias das Regiões Oeste, Central e Leste do país, basicamente em áreas de 25 empresas com programas genéticos e esquemas de venda de leite para substituição de exportações, e na sua variante extensiva no resto das unidades, dependendo das possibilidades de recursos e características do sistema produtivo utilizado. O resumo dos principais resultados obtidos nos últimos 5 anos são os seguintes:

- Aumento do preço do leite entre 5-15 centavos/litro, equivalente a 5 milhões de pesos para os produtores (câmbio de 1 dólar americano= 22 pesos cubanos);
- Aumento em mais de 1,2% do conteúdo de sólidos totais do leite, o que significa a redução substancial da importação de leite em pó. Sobre uma média de 200 bilhões de litros recolhidos anualmente pela indústria, isto equivale a umas 14,4mil toneladas de leite em pó no período de 5 anos;
- Redução da prevalência de mastite entre 35-50%, com aumento de 0,8 l/ vaca, referido à aplicação extensiva do Programa (20% da média nacional);
- Dentro do Programa tem sido capacitadas um total de 2500 pessoas por ano e realizado assessoria direta (teórica e prática) a todas as empresas envolvidas;
- Como parte do apoio técnico tem sido realizados mais de 1500 serviços de análise, bem como apoio e assessoria aos 13 laboratórios das empresas envolvidas;
- Tem sido utilizados os produtos Stabilak, Cenmast, Udertan, formulações para corrigir alterações na composição láctea, bem como o uso do equipamento Diramic.

A análise técnico-econômica do PROCAL indica um balanço custo/benefício de 1:5 para as áreas onde é aplicado de forma intensiva. Não são considerados neste indicador os aumentos na produção e em sólidos totais. Atualmente, se trabalha com o Ministério da Agricultura para estender o Programa intensivo a 400 propriedades e melhorar ainda mais o efeito da variante extensiva.

Anais do seminário disponíveis em www.ufrgs.br/favet/bioquimica.

<sup>\*</sup> Material da palestra pré-inaugural ao Seminário Internacional "Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras". Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Universidade de Passo Fundo. Passo Fundo, RS, Brasil, 6 e 7 de dezembro de 2001.

Tradução de Félix H.D. González (felixgon@orion.ufrgs.br).

# INTRODUÇÃO

Nos últimos cinco anos têm ocorrido importantes mudanças no setor leiteiro mundial e regional, cuja expressão mais imediata é a multiplicação da Febre Aftosa e o aparecimento da Encefalite Espongiforme Bovina ("doença da vaca louca"), junto com o aumento crescente dos preços e uma menor disponibilidade de produtos lácteos no mercado internacional, basicamente do leite em pó.

A manutenção de baixos custos de produção, junto a uma alta capacidade competitiva em escala nacional é uma condição para o desenvolvimento da indústria do leite na maior parte dos países de América Latina e o Caribe, que são dependentes deste mercado exportador e que freqüentemente têm de competir com um forte e, muitas vezes desleal ingresso de produtos subsidiados.

Para enfrentar esse desafio, o setor leiteiro tem a necessidade de evoluir rapidamente, ajustandose às novas condições da competência. Geralmente, são observados crescimentos da pecuária de leite e da indústria láctea na quase totalidade dos países do continente. Neste sentido obter uma matéria prima de alta qualidade é um fator decisivo na estratégia de desenvolvimento da produção de leite. Sem leite de boa qualidade, não tem produtos de boa qualidade, e sem esses é muito difícil obter vantagens competitivas no mercado, onde abundam múltiplos produtos com diversidades de preços e qualidade. O simples fato de aumentar a meia vida de um produto na prateleira constitui um fator de sucesso de uma empresa com relação a outra.

Por isso, os programas de melhoramento da qualidade estão em pauta na maior parte dos países da América e em alguns atinge um alto grau de excelência nos resultados. A situação mais desfavorável ocorre nos países situados na faixa tropical/subtropical do continente, onde se misturam dificuldades econômicas e influências climáticas desfavoráveis.

A industria leiteira cubana tem uma complexa situação onde concorrem fatores socioeconômicos, tecnológicos e de escassez de recursos, que influem decididamente na baixa eficiência, enquanto que existe um reconhecido potencial científico-técnico para sua transformação. A aplicação e impacto dos resultados científicos nesta área não é tarefa fácil, mas é imprescindível para os avanços que impõe a situação nacional e internacional.

O Programa Integral para Melhorar a Produção e Qualidade do Leite em Cuba (PROCAL) que ora se apresenta, está validado através de cinco anos de experiência sob estas difíceis condições da produção leiteira do país, e incorpora os avanços científico-técnicos em termos de produtos e tecnologias, serviços, capacitação e assessoria desde a produção primária até a industrialização do leite

# DESCRIÇÃO DO PROGRAMA

O PROCAL está baseado nos seguintes princípios:

- Estabelecer com clareza os pontos de partida para a melhora com a finalidade de conseguir um nível objetivamente atingível;
- Diferenciar o tratamento para produtores especializados (gado especializado, ordenha mecânica, criação artificial, infraestrutura) daqueles com menor nível de desenvolvimento;
- Obter vantagens preferenciais claras, tanto em termos econômicos como produtivos, para os produtores que apliquem o programa;
- Ter correspondência com o atual sistema de pagamento do leite por qualidade;
- O melhoramento obtido deverá ser percebido pela indústria em termos de melhores rendimentos, qualidade, vida útil do produto final, ganhos e, também, um produto seguro para o consumidor.

O objetivo geral do Programa é melhorar a eficiência económico-produtiva dos rebanhos, aumentando em até 30% o preço básico inicial do litro de leite e em 20% os rendimentos por vaca em ordenha, de acordo com as características raciais e o manejo dos rebanhos.

#### O Programa consta de 8 pontos básicos:

- 1. Evitar punições por baixo teor de sólidos;
- 2. Aumentar a bonificação por gordura;
- 3. Melhorar a classificação higiênico-sanitária do leite;
- 4. Prevenir e controlar eficazmente a mastite bovina;
- 5. Melhorar a conservação e captação do leite;
- 6. Otimizar a amostragem e confiabilidade analítica dos laboratórios;
- 7. Capacitar a todos com ênfase nos produtores de base;
- 8. Estabelecer um sistema de análises técnico-econômicas sobre o impacto do Programa.

A aplicação do Programa é concebida para dois níveis produtivos: (a) um nível intensivo que abarca os produtores especializados que possuem propriedades com animais do tipo Holandês, instalações modernas com ordenha mecanizada, criação artificial dos terneiros e, geralmente, equipamentos para esfriamento do leite, e (b) um nível básico que abarca aos produtores com menor desenvolvimento técnico e de infraestrutura, animais rústicos, e ordenha manual. Como em muitos lugares do país coexistem ambas condições, é muito importante levar em conta que deve existir um tratamento diferenciado para cada produtor, uma vez que a homogeneização dos critérios não se ajusta à realidade de todos os produtores.

O Programa de implementação tem quatro fases. A **primeira fase** constitui uma avaliação inicial da situação existente que sirva de base para identificar o marco de trabalho, as ações técnicas fundamentais e as necessidades do Programa. A **segunda fase** deverá estar acompanhada de uma intensa atividade de capacitação direta aos técnicos e produtores e aplicar "o que puder no momento", mas identificando claramente o que falta para alcançar conforme os objetivos propostos. A **terceira fase**, **de estabelecimento**, consolida todas as medidas e obtém critérios sobre resultados concretos e avaliáveis. A **quarta fase** estabelece os ajustes do Programa que permitam passar a uma fase qualitativa e quantitativamente superior, com a participação de todos os envolvidos, incluindo a estratégia da indústria no uso do leite segundo a sua qualidade.

Uma característica distinta do Programa é que introduz vários resultados obtidos em Cuba: o uso de um diagnosticador de mastite similar ao clássico California Mastitis Test (CMT) em função da reação com células somáticas (CENMAST), o uso do primeiro desinfetante mamário de origem natural, que tem comprovada efetividade contra os principais patógenos produtores de mastite, (nome comercial UDERTAN) e um esquema de avaliação clínica do úbere acompanhado de indicadores para obter uma maior efetividade na recuperação natural dos casos clínicos quando não há medicamentos para tratamento convencional.

A Síndrome do Leite Anormal (SILA) constitui uma alteração generalizada das propriedades físico-químicas do leite, com incidência negativa nos processos tecnológicos do seu processamento industrial, perda da qualidade dos produtos e diminuição dos rendimentos em queijos. Quando é diagnosticada uma situação de SILA em zonas incluídas no Programa, onde for um problema recorrente, são tomadas algumas providências técnicas e práticas que permitam sua rápida correção e o restabelecimento da qualidade do leite.

Outro resultado do Programa é o uso do STABILAK, produto baseado na ativação do sistema natural do leite conhecido como lactoperoxidase, que possibilita a manutenção do leite cru sem refrigeração por um tempo que oscila entre 8 a 24 horas, dependendo da temperatura e o grau de contaminação inicial. O produto tem sido extensamente avaliado desde o ponto de vista experimental e prático em mais de 15 países tropicais. Não causa dano à saúde humana nem altera as propriedades organolépticas do leite e seus derivados.

É oferecida assessoria na implementação das Boas Práticas dos Laboratórios (BPL). Nesse sentido existe uma ampla experiência no CENSA para a organização e execução deste aspecto. Dos

resultados originais introduzidos no Programa, está o equipamento DIRAMIC, de tecnologia cubana, capaz de classificar o leite de acordo com o conteúdo total de bactérias, bem como medir as mudanças de condutividade elétrica do leite para o diagnóstico de mastite. Uma vantagem essencial da tecnologia DIRAMIC é seu baixo custo e a rapidez nas análises.

O Centro de Ensaios para o Controle da Qualidade do Leite e Derivados Lácteos, é um laboratório creditado pela norma ISO-Guia 25, que serve de suporte tecnológico para o serviço científico-técnico que requer o Programa. A capacitação concebe um movimento técnico que combina os princípios básicos de disciplina e cultura leiteira junto à aplicação de resultados científico-técnicos provados na prática. Para tanto, o conceito aplicado leva em conta a capacitação, a transferência tecnológica e a inovação tecnológica. O Programa inclui três níveis: produtores diretos, pedra angular do Programa, pessoal técnico que participa na execução e pessoal dirigente e técnico da empresa e outras instâncias relacionadas com o Programa.

O rebanho constitui a unidade básica de aplicação. Um requisito importante é conhecer o custo da produção total e por litro de leite, antes de aplicar, parcial ou totalmente, o Programa. Por isso, os registros produtivos de mastite, saúde do rebanho, custos de produção e preço de venda do leite são alguns indicadores fundamentais para avaliar o efeito das medidas. Não se trata de instrumentalizar um sistema complexo de registros, que em últimas não interessa nem é possível levar. Trata-se das medidas elementares sobre a produtividade e economia básica da unidade, mais os dados técnicos do comportamento do rebanho.

Em resumo, trata-se da integração dos resultados científicos e conhecimentos técnicos obtidos neste campo, com o interesse e participação dos produtores num programa que seja simples, aplicável e mensurável.

# IMPLENTAÇÃO DO PROCAL

A implementação do PROCAL na sua categoria intensiva, que significa a aplicação dos oito pontos básicos, iniciou em 1996 por duas empresas da Província de Havana, tendo se estendido de forma paulatina a 25 empresas pecuárias de 7 províncias do país. Estas são: Pinar del Río, La Habana, Ciudad Habana, Matanzas, Villa Clara, Cienfuegos, Sancti-Espíritus e Granma.

O Programa inclui 300 rebanhos de 33 granjas num total aproximado de 15000 vacas em ordenho. Dentre as principais empresas estão: Camilo Cienfuegos (Pinar del Río), Los Naranjos (Havana), Genética de Matanzas (Matanzas) e Hermanos Lotis (Granma).

O programa extensivo iniciou em 1992, estando dirigido ao resto das propriedades do país. Inclui o uso dos produtos Stabilak e Cenmast, capacitação, serviços de análise, assessoria e trabalho de laboratório, bem como as orientações técnicas para o melhoramento da obtenção e manipulação do leite. No marco da ampliação deste programa foi criado o escritório de pecuária do grupo nacional de leite para avaliar esta e outras ações neste campo e ter um centro de informação e discussão técnica, com sede no CENSA.

Atualmente, o programa intensivo foi ampliado a 400 propriedades, sempre com o princípio que o marco de aplicação desta modalidade cumpra rigorosamente com o estabelecido em todos seus pontos, tanto de caráter técnico como material e conseguir maiores avanços na sua versão extensiva.

# BENEFÍCIOS ECONÔMICOS E SOCIAIS

O preço médio de venda de um litro de leite, em dólares, está na faixa de 18 centavos e tem um potencial de venda de 22 centavos, o que não é possível por problemas de qualidade. Com a aplicação do Programa tem sido obtidos aumentos de 2-4 centavos de dólar (10-15 centavos de peso). Isto foi logrado fundamentalmente pela eliminação de punições por baixos sólidos e pelo aumento da qualidade higiênico-sanitária.

A produção de leite aumentou em mais de um litro por vaca em ordenho, fundamentalmente pela redução entre 30-50 % da prevalência de mastite (20% da produção média do país) e a eliminação de punições por este conceito.

Adicionalmente têm sido eliminadas as perdas de leite ácido nas unidades com o programa intensivo, que foram de 5% da produção total no início. No início do Programa, o nível de sólidos totais no país era de 10,62%, fracionado em 3,24% de gordura e 7,38 % de sólidos não gordurosos. Atualmente é registrado um valor de 3,65% de gordura e 8,20% de sólidos não gordurosos para um valor de 11,85% de sólidos totais.

O custo do Programa, fundamentalmente em produtos e serviços especializados tem variado entre 20-30 mil dólares po ano para as primeiras 250 propriedades e até 50 mil dólares para o resto do país.

O impacto econômico se concretiza nos seguintes indicadores:

- Aumento de 10 centavos de peso no preço de venda do leite (2,5 centavos de dólar) por litro.
   Isso significa recuperação de 5 milhões de pesos nas áreas com moeda nacional neste sistema e
   150 mil dólares na área de substituição de exportações, considerando as primeiras 250 propriedades no Programa.
- Aumento de 1,5 bilhões de litros de leite considerando as primeiras 5000 vacas em ordenho incluídas no programa intensivo, o que significa mais de 300 mil dólares (20 centavos por litro).
- Recuperação de um estimado de 14,4 mil toneladas de leite em pó, equivalente por melhora dos sólidos totais nos últimos 5 anos, considerando um volume médio de captação na indústria de 200 bilhões de litros. Significa mais de 25 milhões de dólares (a 2000 dólares a tonelada).
- Aplicação concreta de 5 produtos derivados da pesquisa: Stabilak, Cenmast, Udertan, Diramic e formulações para corrigir sólidos.
- Capacitação e requalificação de mais de 5000 pessoas por ano.
- Realização de 1500 serviços de análise de apoio ao Programa.
- Melhoramento do trabalho analítico em 13 laboratórios.
- Melhoramento na qualidade da matéria prima e dos produtos derivados.
- Experiências positivas na organização e desenvolvimento de um programa desta natureza, com o compromisso ativo dos produtores, o apoio da área de pecuária do Ministério de Agricultura e o trabalho direto dos pesquisadores que obtiveram os resultados científicos que o sustentam.