

**Universidade de São Paulo  
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Variabilidade de frações protéicas do leite em rebanhos leiteiros do estado de  
São Paulo**

**Teodoro Teles Martins**

**Dissertação apresentada para obtenção do título de  
Mestre em Agronomia. Área de concentração:  
Ciência Animal e Pastagens**

**Piracicaba  
2008**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**Teodoro Teles Martins**  
**Engenheiro Agrônomo**

**Variabilidade de frações protéicas do leite em rebanhos leiteiros do estado de São Paulo**

**Orientador:**  
**Prof. Dr. PAULO FERNANDO**  
**MACHADO**

**Dissertação apresentada para obtenção**  
**do título de Mestre em Agronomia. Área**  
**de concentração: Ciência Animal e**  
**Pastagens**

**Piracicaba**  
**2008**

Aos meus pais, Marcelo e Dagmar, por se preocuparem até hoje com meus resultados, por torcerem por mim, por ficarem tão ou mais contentes do que eu com minhas vitórias e conquistas. Pelas orações e conselhos e pelo exemplo, enfim por serem meus pais de quem me orgulho tanto.

Às minhas irmãs (Marina e Mônica) e “agregados” (Marcos e Clayton), por sempre me apoiarem e me ensinarem muitas coisas (cada um a seu modo).

**DEDICO**

*“A mais bela recompensa para quem persistir a vida toda tentando entender um pouco da verdade, é que os outros compreendam seu trabalho e fiquem satisfeitos com ele.”*

*Albert Einstein*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo que me proporcionou durante meu curso de mestrado, pelos momentos de felicidade e de angústia. Nada foi por acaso. Obrigado, Senhor!

À Universidade de São Paulo e à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, instituição pela qual me formei Engenheiro Agrônomo, agradeço pela oportunidade da realização do curso de mestrado, por meio do Departamento de Zootecnia.

Ao meu orientador Professor Doutor Paulo Fernando Machado, pelos ensinamentos transmitidos e pelo grande voto de confiança ao me aceitar como orientado no curso de mestrado.

Ao Professor Doutor Marcos Veiga dos Santos, pela valorosa colaboração nesta pesquisa, pela disponibilidade, sempre que possível, em tirar minhas dúvidas e também por me dar um grande voto de confiança para que eu desenvolvesse esta pesquisa.

Ao Professor Doutor Gerson Barreto Mourão pela amizade, ajuda e ensinamentos em estatística transmitidos, sua colaboração foi, sem dúvida, muita valiosa.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Zootecnia da ESALQ.

Aos meus amigos, a quem sempre chamei de “irmãos”, que me confortaram e ampararam nos momentos de ansiedade.

Aos grandes amigos de república e para a vida: Civil (Fábio A. Entelmann), Q-dureza (Daniel Manfredini), Cirilo (Clayton Q. Mendes), Goiano (Leandro Ferreira Grecco) e Gauchinho (Diego...), de quem seria impossível me esquecer.

Aos técnicos e amigos do laboratório da Clínica do Leite pelo auxílio e convívio, sem vocês este trabalho seria impossível de ser concluído. Muito obrigado!

Aos técnicos e amigos do Laboratório de Produtos de Origem Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/USP, Pirassununga, em especial a Lucinéia Mestieri, Nathália Motta e Bruno Garcia Botaro, pela amizade, auxílio e convívio, vocês tiveram participação muito importante neste trabalho.

Aos colegas de pós-graduação e amigos da Clínica do Leite: Ana Carolina, Luiz, Talita, José, Viviane e Augusto, por todos os momentos juntos.

Ao meu “gerente”, Luiz Carlos Roma Júnior, pela paciência e ensinamentos transmitidos, por ter sido “chato” nas horas necessárias e um grande amigo em todas as outras.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), por promover o auxílio financeiro para a realização desta pesquisa.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de mestrado.

Aos meus pais que nunca deixaram de me encorajar e apoiar mesmo nos piores momentos, que sempre me mostraram que havia “sim”, uma luz no final do túnel, obrigado.

À minha namorada, por ter me compreendido nos momentos em que me isolava para poder escrever esta dissertação e por sempre me incentivar, obrigado.

Às bibliotecárias da ESALQ, que têm grande responsabilidade por esta dissertação estar escrita de forma correta. Obrigado pela paciência e presteza de vocês.

A todos que aqui não citei, mas que, de alguma forma, são parte integrante e especial de minha vida.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	9
<b>ABSTRACT</b> .....	10
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	13
<b>2.1 Qualidade do leite</b> .....	13
<b>2.2 Pagamento por qualidade</b> .....	15
<b>2.3 Proteínas do leite e suas frações</b> .....	17
<b>2.3.1 Proteínas</b> .....	17
<b>2.3.2 Caseína</b> .....	18
<b>2.3.3 Proteína do soro</b> .....	20
<b>2.4 Fatores que afetam a composição protéica do leite</b> .....	21
<b>2.4.1 Efeito da sazonalidade sobre a composição protéica do leite</b> .....	21
<b>2.4.2 Efeito genético</b> .....	23
<b>2.4.3 Efeito da nutrição</b> .....	24
<b>2.4.4 Efeito da mastite</b> .....	26
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	28
<b>3.1 Seleção dos rebanhos</b> .....	28
<b>3.2 Procedimento de coleta e envio de amostras para o laboratório</b> .....	28
<b>3.3 Metodologias para análises</b> .....	29
<b>3.3.1 Metodologia para determinação da composição do leite</b> .....	29
<b>3.3.2 Metodologia para contagem de células somáticas do leite</b> .....	29
<b>3.3.3 Metodologia para determinação do nitrogênio total (NT ou PB)</b> .....	29
<b>3.3.4 Metodologia para determinação do nitrogênio não protéico (NNP)</b> .....	30
<b>3.3.5 Metodologia para determinação da proteína verdadeira pelo método de Kjeldahl</b> .....	30
<b>3.4 Análise de Resultados</b> .....	30



<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	32
<b>4.1 Composição média do leite</b> .....	32
<b>4.2 Efeito da Contagem de Células Somáticas</b> .....	34
<b>4.3 Efeito da Sazonalidade</b> .....	35
<b>4.4 Efeito de Raça</b> .....	38
<b>4.5 Efeito do Sistema de alimentação</b> .....	39
<b>4.6 Correlação entre os métodos padrão e automatizado</b> .....	41
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	45
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	46

## RESUMO

### Variabilidade de frações protéicas do leite em rebanhos leiteiros do estado de São Paulo

O presente estudo teve por objetivo estudar a variabilidade da proteína verdadeira do leite em rebanhos leiteiros do estado de São Paulo, segundo a influência da contagem de células somáticas, raça, estação do ano e tipo de sistema de alimentação. Para tanto, foram utilizados 50 rebanhos comerciais distintos, formados por três raças distribuídas da seguinte forma: 17 da raça Holandesa, seis da raça Jersey e 26 da raça Girolando. Mensalmente foram coletadas amostras de leite do tanque de expansão sendo estas analisadas em relação à composição e contagem de células somáticas pelo método automatizado, e em relação ao teor de proteína verdadeira pelo de Kjeldahl. O teor de nitrogênio total foi multiplicado por 6,38 para transformá-lo em proteína bruta do leite (PB). O teor de proteína verdadeira (PV) do leite foi calculado pela diferença entre estas duas frações nitrogenadas ( $PV = PB - NNP$ ). As diferenças observadas nos teores de proteína verdadeira, quando considerados os efeitos da época do ano, raça, sistema de alimentação e contagem de células somáticas, não foram significativas, o que permitiu a formulação de uma equação, a qual possibilita determinar a proteína verdadeira de forma simplificada. Foi proposta a equação:

$PV = -0,1862 + (1,0869 \times PB) - (1,2895 \times NNP) + 0,0687$ , com  $R^2 = 0,82$ . A utilização do teor de proteína verdadeira ao invés do teor de proteína bruta, como ainda é feito no Brasil, na calibração dos equipamentos automatizados, aumentaria de forma significativa a acurácia nos resultados de proteína do leite, permitindo aos laticínios melhor classificação dos produtores dentro dos sistemas de pagamento, remunerando os produtores de forma mais justa.

Palavras-chave: Gado leiteiro; Sazonalidade; Proteína verdadeira; Raça; Sistemas de pagamento;

Leite

## ABSTRACT

### Variability of milk protein fraction in dairy herds of state of São Paulo

The objective of this experiment was to study the variability of the true protein of milk produced in dairy herds of Sao Paulo State, under the influence of milk somatic cell count, breeds, season of the year and production system. For this aim, fifty commercial herds were selected; these herds were divided by breeds in: 17 Holstein, six Jersey, and 26 Girolando. Milk samples from the bulk tank were collected monthly and were analyzed to determine milk somatic cell count (SCC) and milk composition by the automatic method and to determine the true protein of milk (TP) by Kjeldahl method. The total nitrogen was multiplied by a factor of 6.38 to express the results in crude protein (CP) basis. True protein of milk was determined by the equation ( $TP = CP - NPN$ ). No significative effect were observed for season of the year, breed, SCC and system of production were observed and this fact aloud a confection of one equation to predict milk true protein:  $TP = -0,1862 + (1,0869 \times CP) - (1,2895 \times NPN) + 0,0687$  with  $R^2 = 0,82$ . The use true protein of milk instead of crude protein, like it is still used in Brazil, will increase the accuracy of protein testing, and will improve substantially the milk payment system.

Keywords: Dairy cattle; Season; True protein; Breed; Payment system; Milk

## 1 INTRODUÇÃO

Cada vez mais a composição do leite, em particular o teor de proteína, apresenta crescente importância para os setores da cadeia agroindustrial desta matéria-prima. Fatores intrínsecos e extrínsecos ao animal como raça, sistema de ordenha adotado, frequência de ordenha, manejo alimentar e variações sazonais afetam esta composição (LINDMARK-MÅNSSON et al., 2003; NORO et al., 2006). Por outro lado, a demanda por produtos lácteos, principalmente aqueles com maiores teores de proteína, é tipicamente uniforme no decorrer do ano (ALLORE et al., 1997) e segue tal tendência, segundo Medeiros et al. (2001), desde a segunda metade da década de 80. Em alguns países como Holanda, Dinamarca, Polônia e Suíça, desde o início da década de 80, maior ênfase tem sido dada para a busca de maiores teores de proteína do leite, usada nos sistemas de pagamento do leite (TEIXEIRA et al., 2003). Em países como, França, Austrália, Nova Zelândia e Canadá, o teor de proteína bruta e gordura contabilizam, respectivamente, cerca de 50 e 40% do preço total recebido pelos produtores (WILLIAMS; JACHNIK, 1991). Mais recentemente, França e E.U.A. utilizam o teor de proteína verdadeira como critério para pagamento aos produtores (BEAUSEJOUR, 2002). No Brasil, diversas empresas empregam atualmente sistemas de pagamento baseados na composição centesimal do leite, nos quais a proteína bruta e gordura são os componentes mais valorizados (MARTINS et al., 2004).

Em países onde grandes quantidades de leite são processadas para a produção de queijos, é necessária certa estabilidade da proporção de caseína na proteína verdadeira do leite (COULON et al., 1998), já que a caseína contida no leite é o componente determinante de rendimento na produção de queijos e outros derivados lácteos (EMMONS et al., 1990). De acordo com Associação Brasileira de Indústrias de Queijos (2006), o Brasil detém grande potencial para produção e exportação de queijo, haja vista o volume de produção cresceu de 46.013 toneladas em 1998 para 53.033 toneladas em 2003.

Alguns estudos acerca da composição do leite foram desenvolvidos no país (MACHADO et al., 2000; TEIXEIRA et al., 2003), entretanto, ainda não existem trabalhos publicados sobre os efeitos exercidos pela composição genética, sistemas de alimentação adotados e efeitos da sazonalidade sobre a proteína verdadeira (PV) do leite. Trabalhos de pesquisa anteriores têm relacionado tais efeitos sobre concentrações de nitrogênio uréico do leite (NUL) e de proteína bruta (PB) do leite, além de somente apresentarem resultados dos teores protéicos do leite em

termos de proteína bruta ( $PB = N \times 6,38$ ), sem avaliar a proteína verdadeira ( $PV = PB - NNP$ ) e a suas frações: caseína e proteína do soro.

Informações a respeito dos efeitos exercidos pelos fatores supracitados sobre a composição protéica do leite, sobretudo a proteína verdadeira, são escassas. Existindo ainda uma alta demanda por estas informações por parte da indústria e produtores, uma vez que a composição é um fator determinante nos sistemas atuais de pagamento do leite.

E como, ao contrário do que ocorre com a determinação dos valores de proteína bruta, ainda não há um procedimento válido e aplicável à determinação da proteína verdadeira do leite em escala automatizada, a presente pesquisa objetivou também, avaliar uma metodologia automatizada para executar tal função (SØRENSEN, 2003). A adoção de parâmetros de PB ao invés de PV como base para calibração dos equipamentos eletrônicos de mensuração do leite, leva a indústria a imprecisões da determinação protéica (BARBANO; LYNCH, 1992).

Assim os objetivos deste estudo foram estimar a variabilidade da composição protéica do leite em rebanhos leiteiros do Estado de São Paulo, determinando a correlação entre os resultados de proteína verdadeira determinada pelos métodos de Kjeldahl (padrão) e por absorção infravermelha (automatizado), a amplitude da variação sazonal de proteína verdadeira do leite em relação a duas estações: águas (compreendida entre os meses de outubro e março) e seca (entre os meses de abril e setembro) e também o efeito da variação sazonal, ocorrência de mastite, alimentação e raça sobre o teor de proteína verdadeira do leite.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Qualidade do leite

O Brasil é o sexto maior produtor de leite do mundo, tendo uma taxa de crescimento anual de cerca de 4%, superior à de todos os demais países produtores (EMBRAPA, 2007). O país é também responsável por 66% do volume total de leite produzido nos países que compõem o Mercosul (MÜLLER, 2002). O sistema agroindustrial do leite movimentou, em 2004, US\$ 66,30 bilhões desconsiderando alguns setores não quantificados. Quando comparado a outras culturas como soja, milho, cana-de-açúcar ou recria e engorda, o leite possui a maior lucratividade: R\$ 1501,54/hectare/ano (3,9 vezes maior que a lucratividade da cana-de-açúcar). Este fato mostra a importância do sistema agro-industrial do leite, que é também responsável pela geração de mais de três milhões de empregos, ficando evidente sua importância sócio econômica (NOGUEIRA, et al., 2006).

Somando-se a importância nutritiva do leite a este quadro mencionado acima, estaremos diante de um dos produtos mais importantes da agropecuária brasileira (EMBRAPA, 2007).

No entanto, a qualidade da matéria prima se constitui num dos maiores entraves ao desenvolvimento e consolidação desta indústria no Brasil. Esta baixa qualidade do leite atinge toda a cadeia produtiva, causando perdas de produtividade e baixos rendimentos industriais, além de elevar o risco do consumidor quanto a doenças, problemas digestivos ou de toxicidade (DÜRR, 2004). De modo geral o controle da qualidade do leite nas últimas décadas tem se restringido à prevenção de adulterações do produto *in natura* baseada na determinação da acidez, índice crioscópico, densidade, percentual de gordura e extrato seco desengordurado (OLIVEIRA et al., 1999).

Com a criação do “Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite” (PNMQL), no final de 1996, buscou-se uma melhoria da qualidade do leite produzido no país, visando padrões internacionais (DÜRR, 2005). Fazendo parte deste programa a Rede Brasileira de Laboratórios de Controle de Qualidade do Leite (RBQL), responsável pelas análises de leite para verificação da qualidade. Desta forma atendendo as exigências crescentes do mercado consumidor e colocando o leite brasileiro em condições de competir no futuro, com países especializados na pecuária leiteira (COSTA, 1996).

Somado a este programa, está a implementação da Instrução Normativa nº. 51 (IN 51) de 18 de setembro de 2002, que fixa os requisitos mínimos a serem observados para a produção, identidade, qualidade, coleta e transporte do leite no Brasil (BRASIL, 2002). A IN 51 tem provocado mudanças positivas na produção de leite no país, mas melhoras efetivas na qualidade do leite dependem não somente de mudança de legislação e sim esforços de toda a cadeia produtiva.

Do ponto de vista legal e prático, considera-se que a qualidade do leite cru compreende dois aspectos principais. Um deles é a composição que pode incluir um ou mais dos seguintes teores: proteína, gordura, lactose e sólidos totais/desengordurados. O segundo aspecto é o higiênico-sanitário, ambos influenciam as propriedades tecnológicas e nutritivas do leite e derivados e as características sensoriais. Com relação ao aspecto higiênico-sanitário, três requisitos são essenciais e adotados internacionalmente, a Contagem de Células Somáticas (CCS), Contagem Bacteriana Total (CBT) e, ainda, a ocorrência de resíduos de antibióticos que podem afetar tanto a saúde humana quanto as propriedades tecnológicas (BRITO; BRITO, 2004).

Entende-se por leite de qualidade, aquele que atende os seguintes requisitos: características organolépticas próprias do leite, conter o mínimo de microrganismos contaminantes, ausência de resíduos de antibióticos ou adulterantes e possuir baixa contagem de células somáticas (PHILPOT, 2005).

Segundo Fonseca e Santos (2000), o leite é uma solução de várias substâncias em água, contendo uma suspensão coloidal de pequenas partículas de caseína (micelas), uma emulsão de glóbulos de gordura, vitaminas lipossolúveis, que encontram-se em suspensão, solução de lactose, proteínas hidrossolúveis e sais minerais.

A CCS reflete a prevalência de mastite no rebanho, doença que afeta o rendimento e qualidade industrial do leite altera a composição do leite e reduz significativamente a produtividade do rebanho (FONSECA; SANTOS, 2000). Ou seja, o produtor tem sua renda diretamente afetada, pois tem menos leite para venda e ainda assim com pior qualidade. No Brasil, segundo a IN 51, o limite máximo aceitável é de 1.000.000 células/mL para leite cru refrigerado, no período de 01/07/2005 até 01/07/2008 nas Regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste (BRASIL, 2002).

A Contagem Bacteriana Total (CBT) estima o número de colônias bacterianas presente em dada amostra de leite, e fornece uma avaliação quantitativa do número total de bactérias

aeróbicas no leite, sendo considerada um indicador bastante fiel da qualidade higiênica do leite (SANTOS, 2005). No Brasil, para leite cru refrigerado, o limite máximo estabelecido para CBT é de 1.000.000 ufc/mL, no período de 01/07/2005 até 01/07/2008 para as Regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste (BRASIL, 2002).

A presença de resíduos de antibióticos representa o principal ponto crítico de controle de contaminação química do leite, sendo monitorada nas plataformas de recebimento de leite das indústrias, constituindo um grande risco para a saúde dos consumidores (CULLOR, 1993). O leite contaminado com estes resíduos também trás prejuízos ao laticínio, interferindo nos processos de fermentação, utilizados para a fabricação de queijos, iogurtes e manteiga (COSTA, 1996).

A fração mais variável dos componentes do leite é a gordura. Ela é utilizada na fabricação de muitos produtos, como manteiga e creme de leite, e tem também um papel importante na fabricação de queijos, influenciando desde o sabor até a maciez e a coloração dos produtos (ABREU, 2000).

A indústria não consegue melhorar a qualidade do leite recebido, na melhor situação mantém a qualidade, embora a pasteurização elimine a grande maioria dos microrganismos do leite. As enzimas microbianas muitas vezes permanecem nos produtos lácteos e lentamente degradam os seus componentes, gerando diminuição no valor nutricional do produto e o desenvolvimento de sabores indesejáveis nos produtos finais (PHILPOT, 2005).

## **2.2 Pagamento por qualidade**

No Brasil desde o início da década de 90, todo o agronegócio do leite tem passado por profundas transformações, como: liberação do preço do leite no final de 1991, maior abertura ao comércio internacional, especialmente com a efetivação do Mercosul (GOMES, 1997). No segmento da indústria, o aumento na concorrência tanto na captação quanto na oferta de novos derivados, vem favorecendo a concorrência e mudança nos critérios de pagamento do leite ao produtor, considerando o preço-base somado a bonificações por volume e qualidade do leite (GOMES, 1997).

O pagamento pela qualidade é um instrumento empregado pelas indústrias para incentivar o produtor a investir em cuidados que resultem em melhor qualidade do produto. Além do pagamento de bonificações pelo leite de alta qualidade, podem ser incluídas penalizações para o



leite de baixa qualidade. Esses programas têm sido ferramentas poderosas para motivar os produtores a melhorar a qualidade do leite cru (BRITO et al., 2007). Em geral, os incentivos por qualidade variam entre as indústrias ou cooperativas, mas a contagem de células somáticas, contagem total de bactérias, ausência de resíduos de antibióticos e de outros inibidores e ausência de fraude por adição de água são sempre contemplados. Além destes indicadores, no Brasil, nos programas ditos de “pagamento por qualidade”, são incluídos também uma série de fatores relacionados às condições de produção, que não medem a qualidade em si, como volume e manejo por exemplo (MADALENA, 2000).

Cada indústria ou cooperativa estabelece seus próprios critérios, que geralmente são mais rígidos que os oficiais, oferecendo bonificações para os produtores que fornecerem leite dentro desses padrões. Indústrias de queijos, em geral, pagam as bonificações mais altas, com forte ênfase à contagem de células somáticas e composição (BRITO et al., 2007).

O mercado mundial de alimentos apresenta alta competitividade entre as indústrias processadoras. A necessidade de atender à exigente e instável demanda gera novos produtos para os quais se requer matéria prima de alta qualidade (CAMPOS et al., 2006). O estímulo para os segmentos do setor leiteiro buscarem essa qualidade não é diferente no Brasil em relação ao resto do mundo, uma vez que baseiam-se em resultados financeiros.

A fim de promover a melhoria na qualidade do leite é preciso que o produtor seja incentivado a investir em cuidados que resultem nessa melhoria. Na Europa, existe regulamentação para pagamento do leite por qualidade desde 1971. Em alguns países como Holanda, Dinamarca, Polônia e Suíça, desde o início da década de 80, maior ênfase tem sido dada para proteína do leite, usada nos sistemas de pagamento do leite (TEIXEIRA et al., 2003). No Brasil, diversas empresas empregam atualmente sistemas de pagamento baseados na composição centesimal do leite, nos quais a proteína bruta e gordura são os componentes mais valorizados (MARTINS et al., 2007).

Martins (2007) afirma que o pagamento por qualidade tem sido discutido para que as indústrias reduzam suas perdas causadas por baixa qualidade da matéria prima, atender às exigências da legislação vigente (IN 51), além de atender às exigências dos mercados nacional e internacional, aumentar o tempo de vida útil dos produtos, ou seja, atender às exigências de mercado.

São várias as alternativas que podem ser consideradas para aplicar os sistemas de pagamento do leite por qualidade. No plano da bonificação e penalização, as regulamentações também são variáveis. A composição do leite é o critério mais tradicional, ao analisar teores de gordura e proteína, sendo este o parâmetro que mais vem crescendo em importância (IBARRA, 2004).

Cabe destacar que tais critérios e especialmente aqueles relacionados com a qualidade microbiológica do leite são utilizados como critério mínimo para aceitação da matéria-prima por parte da indústria. Os critérios são muito variados e incluem desde o mais básico, como contagem bacteriana total ou contagem global até contagem de células somáticas (IBARRA, 2004). Também são utilizados outros critérios que refletem direta ou indiretamente a qualidade higiênica do leite, tais como alizarol, redutase, álcool, acidez, lacto-filtração e temperatura.

O processo tardio de pagamento por qualidade no Brasil, teria como possíveis explicações o baixo nível de exigência do consumidor brasileiro e a baixa valorização da qualidade pelas indústrias. Neste contexto de segurança alimentar, cresce em importância a Instrução Normativa 51 (MARTINS et al., 2007).

Como é natural, a composição do leite deve se ajustar a determinados valores mínimos de cada um de seus componentes. A maioria dos países iniciou esse tipo de pagamento pelo teor de gordura, principalmente levando em conta a demanda por manteiga. Porém, atualmente, tem-se valorizado mais o teor protéico do leite. Países como Holanda e Dinamarca, já há três décadas, iniciaram o pagamento pelo teor protéico, e alguns países já adotam como referência o extrato seco magro.

Em países onde grandes quantidades de leite são processadas para a produção de queijos, é necessária certa estabilidade da proporção de caseína na proteína verdadeira do leite (COULON et al., 1998), já que esta é o componente determinante de rendimento na produção de queijos e outros derivados lácteos (EMMONS et al., 1990).

## **2.3 Proteínas do leite e suas frações**

### **2.3.1 Proteínas**

Hoje a proteína do leite é provavelmente a mais bem caracterizada de todas as proteínas (FOX, 1998). Pesquisas sobre a proteína do leite datam de 1814, quando o primeiro artigo sobre o assunto foi publicado por Berzelius. Em 1838, Mulder descreveu um método de preparação da

proteína do leite por precipitação ácida, e utilizou o termo proteína. A proteína precipitada por este método foi chamada de caseína ou caseinogênio. Mas apenas na década de 30-40 que o termo caseína foi adotado universalmente (FOX, 1998).

Rowland, em 1938, descreveu um esquema para o fracionamento e quantificação dos maiores grupos de proteínas do leite. Em 1959, Aschaffenburg e Drewry modificaram este esquema, sendo este utilizado amplamente para quantificar os principais grupos de proteínas do leite e fornecer informações para o processamento e o pagamento do leite até hoje (FOX 1998). Cada categoria é determinada pelo método de Kjeldahl, através da determinação de nitrogênio, multiplicando o valor encontrado pelo fator 6,38.

Os compostos de nitrogênio presentes na fração nitrogênio não protéico são em sua maioria proveniente do metabolismo de nitrogênio, passando do sangue para o leite.

O leite contém cerca de 3,25% de proteína total (Kjeldahl N x 6,38). No entanto a classificação das proteínas do leite está longe de ser simples. Analisando a literatura especializada no assunto, é possível perceber a quantidade de diferentes tipos de proteínas do leite que podem ser separadas (HARDING, 1992).

Do ponto de vista da composição do leite, o teor de proteína é de grande importância para obter melhor rendimento na elaboração de produtos lácteos, especialmente queijos (MOLINA, 2006).

### 2.3.2 Caseína

A caseína, para o gênero *Bos*, foi definida inicialmente por Jenness (1965) como sendo fosfoproteínas do leite que se precipitam quando o pH fica em torno de 4,6 à 20°C. Posteriormente, Whitney (1976) diferenciou as caseínas de acordo com sua mobilidade eletroforética em gel de amido contendo uréia, com ou sem mercaptoetanol (FOX, 1998).

Atualmente, as caseínas são classificadas de acordo com a semelhança de suas estruturas primárias (seqüência de aminoácidos), nas seguintes famílias:  $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$ ,  $\beta$  e  $\kappa$ -caseína, estas representam aproximadamente 38, 10, 35 e 15% respectivamente do total de caseína (FOX, 1998), perfazendo quase 80% da proteína total do leite (3,2%). As caseínas têm maior interesse econômico que as proteínas do soro do leite (proteínas solúveis), pois, estão relacionadas com rendimento de produtos lácteos, notadamente queijos (COULON, 1998). Ao redor de 95% da

caseína do leite existe na forma de partículas de dimensões coloidais, conhecidas como micelas. As micelas são altamente hidratadas (2g H<sub>2</sub>O/g de proteína) (FOX, 1998).

A família  $\alpha_{s1}$ -caseína representa cerca de 40% da fração caseína presente no leite bovino, consiste de um componente maior e outro menor. Ambos são cadeias simples de polipeptídeos com a mesma seqüência de aminoácidos, como descreveram Mercier et al. (1971) e Grosclaude et al. (1973), diferindo apenas no grau de fosforilação. O componente menor possui uma adição de resíduo de serina fosforilada na posição 41 (EIGEL et al., 1984). A proteína referência para esta família é  $\alpha_{s1}$ -CN B-8P, uma cadeia protéica simples, sem adição de resíduo de cisteína, com 199 aminoácidos, com peso molecular de 23.615 Daltons (MERCIER et al., 1971). Essa família possui algumas variações genéticas (A, B, C, D, E, F, G, H).

Desde a descoberta das variações genéticas, algumas correlações entre os genótipos e produção e composição do leite têm sido feitas. No entanto estas correlações podem ser contraditórias. Por exemplo, a  $\alpha_{s1}$ -CN fenótipo BB foi correlacionada com altas produções de leite e altos teores de proteína (ZHANG et al., 1994), no entanto o mesmo fenótipo foi correlacionado com baixa concentração de proteína no leite, por Ng-Kwai-Hang et al. (1985; 1997).

A família  $\alpha_{s2}$ -caseína compõe cerca de 10% da fração caseína do leite, e consiste de dois componentes maiores e alguns menores apresentando vários níveis de fosforilação pós-translacional (SWAISGOOD, 1993) e menor grau de ligação intermolecular de dissulfeto. A forma predominante no leite bovino contém uma ligação intramolecular de dissulfeto e difere apenas seu no grau de fosforilação. A proteína referência para esta família é a  $\alpha_{s2}$ -CN A-11P, que é uma cadeia simples de polipeptídeos com uma ligação interna de dissulfeto.

Trinta e cinco por cento da caseína do leite é composta por  $\beta$ -caseína. Esta fração é bastante complexa devido à ação da protease nativa do leite (EIGEL et al., 1984). A variante mais comum nesta família e usada como referência, é a variante A<sup>2</sup> (FARRELL JR., et al., 2004).

Já a família  $\kappa$ -caseína consiste de um grande carboidrato livre e de no mínimo seis componentes menores. Representa aproximadamente 15% do total de caseína. Estes seis componentes menores, detectados por eletroforese em gel de poliacrilamida ou PAGE (do inglês PolyAcrylamide Gel Electrophoresis) na uréia com 2-mercaptoetanol, representam uma variação no grau de fosforilação e de glicosilação. A utilização de sódio dodecil sulfato-gel eletroforese e medidas físicas sugerem que a forma nativa da  $\kappa$ -caseína está altamente associada química e

fisicamente (FARRELL JR., et al., 1996) e o tratamento por calor pode causar agregação (GROVES et al., 1998). A redução e a S-carboximetilação da  $\kappa$ -caseína seguida de aquecimento pode resultar na formação de estruturas fibrilares (FARRELL JR., et al., 2002). As variantes mais comuns nesta família são a  $\kappa$ -caseína A e a  $\kappa$ -caseína B.

### 2.3.3 Proteína do soro

O termo proteína do soro tem sido utilizado para descrever o grupo de proteínas do leite solúveis no soro após a precipitação da caseína a pH 4,6 em temperatura de 20°C. Cerca 20% da proteína total do leite bovino pertence a este grupo. Sendo as frações  $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lactalbumina, albumina sérica consideradas como os maiores representantes desta fração de proteína.

A  $\beta$ -lactoglobulina é a maior proteína presente no soro do leite em ruminantes, representando 50% da proteína desta fração e aproximadamente 12% da proteína total do leite (FOX, 1998). Também está presente no leite de várias outras espécies, mas não em todas (KONTOPIDIS et al., 2004).

Diferentemente da  $\alpha$ -lactalbumina, que possui uma função definida na lactose sintase, a  $\beta$ -lactoglobulina, aparentemente, não possui nenhuma função identificada (KONTOPIDIS et al., 2004). Acredita-se que a  $\beta$ -lactoglobulina pode se ligar e talvez atuar como um carreador do retinol (vitamina A); pode atuar como estimulante da lipase, sendo esta talvez sua mais importante função fisiológica. Devido às altas concentrações de estruturas secundárias e terciárias, a  $\beta$ -lactoglobulina é muito resistente à proteólise no seu estado nativo, sugerindo que a função primária desta proteína não seja nutricional (FOX, 1998).

Dois variantes genéticas ocorrem com maior frequência na maioria das raças leiteiras exploradas, as variantes A e B. A presença de uma ou das duas variantes afeta as propriedades do leite marcadamente, parcialmente devido à diferença físico-química das moléculas de  $\beta$ -lactoglobulina (HILL et al., 1996).

A  $\alpha$ -lactalbumina pode ser definida como uma cálcio-metaloproteína devido à presença desse elemento em sua constituição. Existe evidência que a ligação com cálcio é necessária para o correto envolvimento e ligação do dissulfeto na formação da proteína (CHRYSINA et al., 2000).

O leite bovino possui uma concentração de  $\alpha$ -lactalbumina aproximada de 1,2 a 1,5g/L, o que responde por aproximadamente 25% do total das proteínas do soro do leite bovino e por 3,5% das proteínas totais do leite. A variante B está presente na maioria das raças *Bos taurus* e as variáveis A e B são encontradas nas raças *Bos indicus* (FOX, 2003).

Em vacas leiteiras, o teor de  $\alpha$ -lactalbumina decresce ao longo da lactação (REGESTER; SMITHERS, 1991). Sendo o oposto do que ocorre com a maioria das proteínas do leite, que têm seus teores aumentados ao longo da lactação (DAVIES; LAW, 1980). Este decréscimo está relacionado com a diminuição observada nos teores de lactose ao longo da lactação, sendo também observados menores teores de  $\alpha$ -lactalbumina em animais que apresentaram quadros de mastite (CAFFIN et al., 1985).

A  $\alpha$ -lactalbumina possui uma função específica e definida na glândula mamária. Interage com a enzima  $\beta$ -1,4-galactosiltransferase no complexo de Golgi das células epiteliais mamárias, para formar o complexo lactose sintase. Modifica a especificidade do substrato desta enzima, permitindo a formação de lactose a partir de glicose e UDP-galactose (FARRELL JR., 2004).

Estudos utilizando ratos verificaram que a importância da  $\alpha$ -lactalbumina não é apenas fornecer proteína ao leite, mas também tem uma função reguladora na produção de lactose e secreção do leite (FARRELL JR., et al., 2004).

A albumina sérica é a maior proteína do soro sanguíneo, seu papel principal está relacionado ao transporte, metabolismo e distribuição de compostos ligantes, contribuindo para a pressão osmótica do sangue (CARTER; HO, 1994). A albumina sérica bovina, encontrada no leite é fisiologicamente e imunologicamente idêntica à encontrada no sangue. A albumina sérica representa cerca de 1% do total da proteína do leite e cerca de 8% do total da proteína do soro do leite (FARRELL JR., et al., 2004).

As concentrações de albumina no leite aumentam durante a fase de transição da lactação para a involução e da involução para a lactogênese (SORDILLO et al., 1987) e também durante quadros de mastite clínica e subclínica (PAAPE et al., 2003).

## **2.4 Fatores que afetam a composição protéica do leite**

### **2.4.1 Efeito da sazonalidade sobre a composição protéica do leite**

Diversos estudos têm relatado os efeitos, diretos e indiretos, da sazonalidade sobre a produção e composição do leite. Em 1998, Sargeant et al., observaram tais efeitos,

principalmente nos teores de proteína bruta e gordura, os quais foram menores durante os meses de verão e maiores nos meses de inverno.

Diferenças na produção de queijo durante o ano foram atribuídas por Banks (2000), à tendência de variação sazonal dos teores de gordura e caseína. Altas temperaturas ambientais são citadas como um dos fatores que reduziram o conteúdo de proteína total além de influenciar a consistência do coágulo do leite proveniente de rebanhos submetidos a tais condições, influenciando deste modo o rendimento industrial na produção de queijos (DEPETERS; CANT, 1992; DEPETERS; FERGUSON, 1992).

A composição e qualidade do leite foram estudadas por Allore et al., (1997) em rebanhos nos Estados Unidos e apresentaram diferenças em relação às estações do ano e ressaltaram também a influência da região geográfica sobre tais efeitos, além da produção de leite.

Em 1998, Auldist e Hubble, utilizando rebanhos neozelandeses, na avaliação dos efeitos causados pela estação do ano e estágio de lactação dos animais na composição do leite, verificaram que a época do ano foi o principal efeito sobre os componentes do leite com interesse industrial (proporções de caseína:proteínas do soro, nitrogênio caseínico:nitrogênio total e gordura:proteína). Porém, em 1996, Lacroix et al., na tentativa de determinar os efeitos de região e época do ano sobre as frações nitrogenadas do leite assim como seus efeitos na relação caseína:proteína total e proteína verdadeira em leite destinado a produção de queijos no Canadá, encontraram pequenas diferenças, mas no entanto, significativas, entre as regiões consideradas e as estações do ano. Os autores relataram também que o efeito de região não foi tão significativo (apresentou-se dez vezes menor que o efeito sazonal).

Paquin e Lacroix (1994) relataram que os efeitos das variações regionais e sazonais sobre as frações nitrogenadas do leite não apresentam um padrão de variação definido.

Recentemente, em um estudo realizado em Minas Gerais por Teixeira et al., (2003), no qual foram considerados: o mês do ano, estágio de lactação, idade da vaca ao parto e grupo racial sobre a composição e a contagem de células somáticas do leite, encontrou-se diferença na produção de leite entre as lactações, observando-se aumento da primeira para as demais, no entanto, não foram constatadas alterações nas porcentagens de gordura e proteína. Observaram também que os efeitos do estágio de lactação e mês do ano sobre as porcentagens de gordura e proteína foram significativos, sendo que as variações sazonais destes componentes do leite seguiram tendências opostas à observada pela produção de leite (maiores nos meses de inverno e

menores nos meses de verão). Com relação à idade ao parto, observaram que as porcentagens de gordura e proteína permaneceram relativamente constantes à medida que a mesma aumentava.

#### 2.4.2 Efeito genético

Fatores genéticos como diferenças entre espécies, raças e mesmo entre indivíduos de uma mesma espécie, estão associados à variações na composição do leite. Diversos estudos de genética molecular têm tentado identificar os genes relacionados com tais variações no leite. Os principais estudos se referem aos genes ligados à síntese de proteínas do leite. Já foi descoberto que polimorfismos presentes nestes genes estão associados às diferenças na composição e teor de proteína, afetando, desta maneira, a composição do leite e suas propriedades tecnológicas (GODDARD, 2001).

Outros autores demonstraram que as principais proteínas do leite:  $\alpha_{s1}$ -caseína e  $\alpha_{s2}$ -caseína (MAHÉ et al., 1999),  $\beta$  e  $\kappa$ -caseínas (ONER; ELMACI, 2006),  $\beta$ -lactoglobulina (MOLINA et al., 2006) e  $\alpha$ -lactalbumina (BLECK; BREMEL, 1993), são afetadas pela composição de aminoácidos em função dos polimorfismos observados entre os genes que as codificam. Dovic, 2000, relata a existência de aproximadamente 40 variantes genéticas descritas até o momento para os *loci* gênicos que codificam as principais proteínas do leite, e observou também diferenças consideráveis na distribuição da frequência alélica, mesmo entre indivíduos da mesma raça.

Em 1997, Ng-Kwai-Hang associou esses genes e suas variantes às alterações quantitativas e qualitativas de outros componentes além das proteínas e de características físico-químicas, tecnológicas e de estabilidade do leite. Ng-Kwai-Hang (1998), em revisão sobre os efeitos do polimorfismo das principais proteínas do leite sobre a produção, composição e propriedades tecnológicas, relata que muitos estudos demonstraram que a variante A de  $\beta$ -lactoglobulina, que predomina nas raças zebuínas (SILVA; DEL LAMA, 1997), contém maiores concentrações de proteína bruta e de  $\beta$ -lactoglobulina, porém apresentam menores teores de caseína e gordura. Já, as variantes C e B, da  $\alpha_{s1}$ -caseína e  $\beta$ -caseína, estão associadas com maiores porcentagens de gordura, proteína e caseína, em comparação com a variante A. Para o *locus* gênico da  $\kappa$ -caseína, leites com a variante B, apresentaram maiores concentrações de gordura, proteína e  $\kappa$ -caseína do que leites com a variante A (NG-KWAI-HANG, 1998). O mesmo autor relata também que a estabilidade das micelas de caseína e desnaturação pelo calor da  $\beta$ -lactoglobulina e as



propriedades de coagulação e firmeza do coágulo, características importantes para a indústria na fabricação de queijos, são fortemente influenciados pelo polimorfismo destas proteínas.

No entanto, tais polimorfismos têm sido associados a outras variações na composição do leite que não são conseqüências diretas das diferenças estruturais e de concentração destas proteínas, mas relacionadas aos mecanismos de regulação da síntese láctea (GODDARD, 2001).

### **2.4.3 Efeito da nutrição**

De maneira geral existem três modos principais para se alterar a composição do leite: por meio da exploração das variações de raças e melhoramento genético, pela aplicação de tecnologias industriais de adição ou remoção de componentes e pela nutrição e manejo dos animais (WALKER et al., 2004).

Destas, a nutrição dos animais, que envolve, o manejo alimentar e balanceamento das dietas, constitui-se no principal fator responsável por mudanças nos teores de gordura e proteína, além de possibilitar o mais rápido efeito sobre estes componentes, considerando animais de mesma raça e potencial produtivo. Além disso, Santos e Fonseca (2006), citam o consumo de matéria seca, a qualidade e digestibilidade da fibra e a relação energia:proteína da dieta como os principais fatores nutricionais que afetam a composição do leite.

Em regiões tropicais, como é o caso do Brasil, onde o uso de pastagens na alimentação dos animais é comum, a baixa qualidade nutricional somada à baixa digestibilidade da fibra limita consideravelmente o consumo de matéria seca ao longo do ano, especialmente nas épocas menos chuvosas (inverno) (SANTOS; FONSECA, 2006), tal fato acarreta um balanço energético negativo, comprometendo a produção de leite e os teores de gordura.

Ponce et al., (1999), relatam que alterações na fração dos carboidratos estruturais da dieta reduzem a concentração de proteína do leite. Em contra partida, Theurer et al., (1999), afirmam que dietas com altos teores de concentrado, ou com fontes de carboidratos mais fermentáveis no rúmen, favorecem a produção de proteína no leite.

No que tange aos teores de proteína, fatores dietéticos como nível e tipo de fonte nitrogenada, são citados por Coulon et al., (1998), como contribuintes para a variação na proporção de caseína como parte da proteína verdadeira do leite. Em 2001, Coulon et al., estudando a suplementação de vacas das raças Holandesa, Montbéliarde e Tarentaise, observaram

que a suplementação de proteínas com melhor balanço de aminoácidos aumentou significativamente a relação caseína:proteína total do leite.

Animais mantidos em pastejo apresentam menores produções em comparação àqueles mantidos em confinamento, tal diferença é devida principalmente, à baixa qualidade da maioria das pastagens, que têm baixa digestibilidade, além de sofrer influência sazonal na produção de matéria seca, desta forma comprometendo o aporte de nutrientes necessários à síntese dos componentes do leite (MATTOS, 1995; BARGO et al., 2002).

Em 1999, O'Brien et al., observaram que a composição do leite e suas características de processamento foram significativamente afetadas pela condição e taxa de lotação do pasto durante o ano, afirmaram também que animais em pasto que receberam suplementação com concentrado apresentaram maiores teores de caseína e proteínas do soro na proteína total, sem, no entanto, afetar de forma significativa as características de processamento.

Evidentemente que as condições e o tipo de pastagem influenciam não somente os teores, mas toda a composição dos componentes do leite. Em estudo para avaliação do perfil de ácidos graxos do leite em animais mantidos em pastagens de leguminosas e de gramíneas, Bugaud et al., (2001a) verificaram que os animais que consumiam leguminosas apresentaram maiores teores de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa que os animais alimentados exclusivamente com gramíneas.

As frações nitrogenadas também são afetadas pelo tipo de alimentação. Bugaud et al., (2001b), estudando diferentes tipos de pastagens e dois grupos de vacas com potencial genético diferentes para produção de proteína no leite, verificaram aumentos na produção de leite e proteína em ambos os grupos, porém, a relação caseína:proteína total apresentou uma diferença significativa de apenas 0,5%. Isso porque, o conteúdo protéico do leite apresentou aumento com a alteração na relação volumoso:concentrado, mas o teor de caseína é uma característica difícil de se manipular mediante modificações na dieta (BANKS, 2000).

Variação nos teores de proteína e a utilização de uréia na dieta, prática costumeira dos produtores para reduzir custos de produção na propriedade leiteira, podem acarretar modificações na composição do leite. No entanto, Aquino et al. (2007), estudando o efeito de diferentes níveis de uréia em dietas de vacas em lactação, observaram que a inclusão de até 1,5% de uréia na MS da dieta, não provocou alterações na produção, composição, nem nas características físico-químicas do leite. Santos et al., (1998), que estudaram a substituição, parcial ou total, da proteína

verdadeira da dieta por uréia, em 23 comparações, relataram que em 20 destas não foi observado efeito sobre a produção de leite sendo que em cinco delas observaram aumento no teor de proteína, porém, sem alterações nas concentrações de nitrogênio uréico do leite. Segundo Broderick e Clayton, (1997), a concentração de nitrogênio uréico do leite demonstra principalmente a adequação da relação proteína (nitrogênio):energia da dieta.

#### **2.4.4 Efeito da mastite**

A mastite é definida comumente como uma inflamação da glândula mamária, resultante, normalmente de uma infecção bacteriana (MAZAL, et al., 2007). A resposta inflamatória é caracterizada por influxo de células de defesa presentes no sangue, que causam aumento no número de células somáticas do leite (ANDREWS et al., 1983). Células somáticas são todas as células presentes no leite, incluindo as células originárias do sangue como leucócitos e células de descamação do epitélio secretor. Os leucócitos são, em sua maioria, mobilizados da corrente sanguínea para o tecido mamário devido a alterações na permeabilidade capilar. Em vacas lactantes, e com mastite, ocorre aumento no número de células de defesa passando a predominar neutrófilos, macrófagos, linfócitos e o número de células epiteliais permanece inalterado (PHILPOT; NICKERSON, 1991).

O epitélio da glândula mamária também é afetado, resultando numa redução na produção de leite e também alterando a composição do leite (AULDIST; HUBBLE, 1998). A extensão dos danos causados pela mastite, está relacionada, diretamente, com a superfície do tecido mamário atingida pela reação inflamatória (MÜLLER, 2002). Havendo, portanto, relação direta entre a contagem de células somáticas e a concentração de dos componentes do leite (SCHÄELLIBAUM, 2000). Um dos fatores que pode levar a essa alteração na composição do leite, é a presença de proteases endógenas que irão conseqüentemente, aumentar a atividade enzimática no leite reduzindo os teores de proteína (SANTOS, et al., 2003).

A mastite causa redução nas proteínas sintetizadas na glândula mamária, como é o caso das caseínas,  $\alpha$ -lactalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina, e aumento das proteínas do soro, originárias do sangue, como a albumina sérica e as imunoglobulinas (KITCHEN, 1981). A proteína total do leite sofre pouca variação, mas, no entanto, a concentração de cada fração de proteína varia significativamente (MÜLLER, 2002).

Além de alterar a composição do leite devido à ação de enzimas, o aumento de células somáticas, afeta negativamente outras propriedades do leite, como: tempo de coagulação, a produtividade e a qualidade dos produtos lácteos (KITCHEN, 1981).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Seleção dos rebanhos

Foram selecionados aleatoriamente 50 rebanhos leiteiros comerciais da região de Itapetininga-SP para coletas mensais de amostras de leite de tanque durante o período de um ano (julho/06 a julho/07). Os rebanhos selecionados apresentavam monitoramento mensal da composição e contagem de células somáticas do leite, sendo distribuídos em relação à raça (17 da raça Holandesa, seis da raça Jersey e 26 da raça Girolando), ao sistema de alimentação (seis confinados e 44 semi-confinados) e, quanto ao período de coletas (Tabela 1).

Dos rebanhos inicialmente selecionados, as amostras que apresentaram problemas de identificação, seja devido a rasuras no código de barras, o que impossibilitava a correta identificação da mesma, seja devido a interrupção da atividade por parte do produtor durante o período do estudo, foram excluídas do estudo. Amostras que apresentaram também qualquer tipo de alteração, como por exemplo: coagulação ou amostras com identificação duvidosa ou mesmo sem identificação foram descartadas.

Tabela 1 – Meses de coleta e variação mensal no número de amostras analisadas

Meses do ano	Número total amostras coletadas
Julho/06	50
Agosto/06	41
Setembro/06	44
Outubro/06	42
Novembro/06	39
Dezembro/06	44
Janeiro/07	42
Fevereiro/07	46
Março/07	43
Abril/07	42
Mai/07	41
Junho/07	38
Julho/07	34

#### 3.2 Procedimento de coleta e envio de amostras para o laboratório

As amostras de leite, provenientes do tanque de expansão dos rebanhos selecionados, foram enviadas para o Laboratório Clínica do Leite – Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP (Piracicaba – SP), em frascos de plástico de 50 mL e conservadas em bronopol (2-bromo-2-nitro-1,3-propanodiol) na concentração de 8 mg do ingrediente ativo para cada 40 mL da amostra, para análise de contagem de células somáticas (CCS) e composição.

Após estas análises na Clínica do Leite, as mesmas amostras foram congeladas e enviadas para análises de proteína bruta (PB) e verdadeira (PV) pelo método de Kjeldahl, no Laboratório Análises de Produtos de Origem Animal do Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade de São Paulo (USP) em Pirassununga, SP.

### **3.3 Metodologias para análises**

As análises de nitrogênio não-protéico e nitrogênio total, pelo método de Kjeldahl foram realizadas em duplicatas, sendo o valor final representado pela média dos valores.

#### **3.3.1 Metodologia para determinação da composição do leite**

As análises de composição do leite (gordura, lactose, proteína bruta, sólidos totais e uréia) foram executadas eletronicamente por absorção infravermelha, no equipamento Bentley 2000<sup>®</sup> (BENTLEY INSTRUMENTS INC. Chasca, MN, USA), conforme orientação do fabricante (BENTLEY, 1995) no Laboratório Clínica do Leite – Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP (Piracicaba – SP).

#### **3.3.2 Metodologia para contagem de células somáticas do leite**

A contagem eletrônica de células somáticas no leite foi realizada por citometria fluxométrica utilizando o equipamento Bentley Somacount 300<sup>®</sup> (BENTLEY INSTRUMENTS INC. Chasca, MN, USA). Este equipamento realiza a contagem de DNA reagido com o corante e iluminado por um raio laser (SOMACOUNT, 1995). Os resultados estão expressos em mil células por mL de leite.

#### **3.3.3 Metodologia para determinação do nitrogênio total (NT ou PB)**

O método de referência para determinação da concentração de proteína do leite e derivados lácteos foi baseado na mensuração do nitrogênio total pelo método de Kjeldahl, conforme metodologia descrita pela Association of Official Analytical Chemists (1995, método número 33.2.11; 991.20). O teor de nitrogênio foi então multiplicado por um fator (6,38), para que os resultados fossem expressos em proteína bruta ou proteína total (BARBANO, et al., 1990).

### 3.3.4 Metodologia para determinação do nitrogênio não protéico (NNP)

Para a determinação de nitrogênio não protéico adicionou-se previamente à amostra de leite, solução de ácido tricloracético a 15%, para que ocorresse coagulação de todas as proteínas do leite. As proteínas então coaguladas foram removidas através de filtração, este filtrado foi então submetido à determinação da concentração de nitrogênio pelo método de Kjeldahl.

### 3.3.5 Metodologia para determinação da proteína verdadeira pelo método de Kjeldahl

A determinação da proteína verdadeira (PV) foi realizada através da diferença entre os teores de proteína bruta (PB) e de nitrogênio não protéico (NNP).

## 3.4 Análise de Resultados

Os resultados obtidos foram submetidos à estatística descritiva (média aritmética e erro padrão da média) e à análise de variância, avaliando os efeitos de raça, sazonalidade, sistema de alimentação, contagem de células somáticas e rebanho sobre a variável resposta (proteína verdadeira do leite). O modelo matemático misto utilizado foi o seguinte:

$$y_{ijklm} = \mu + \rho_i + R_j + S_{k(j)} + E_l + \beta(x_{ijklm} - \bar{x}) + \varepsilon_{ijklm}$$

Em que:

Y = é a proteína verdadeira do leite;

$\mu$  = é a média geral do experimento;

$\rho$  = efeito aleatório o  $i^{\text{ésimo}}$  produtor ( $i=1, 2, 3, \dots, 50$ ) assumido distribuição normal  $\sim N(0; \sigma_p^2)$ ;

R = efeito fixo da  $j^{\text{ésima}}$  raça ( $j$ = Jersey, Girolando, Holandesa);

S = efeito fixo do  $k^{\text{ésimo}}$  sistema de alimentação dentro da  $j^{\text{ésima}}$  raça ( $k=1, 2$ );

E = efeito fixo da  $l^{\text{ésima}}$  estação de coleta ( $l=1, 2, \dots, 4$ );

$\beta$  = é o coeficiente linear (covariável) associado ao logaritmo da contagem de células somáticas (CCS);

$x_{ijklm}$  = é o logaritmo da CCS e  $\bar{x}$  = é a média do logaritmo da CCS;

$\varepsilon$  = erro aleatório assumindo distribuição normal  $\sim N(0; \sigma^2)$ .

Para construção das equações de predição do teor de proteína verdadeira, foi realizada uma análise de regressão linear, utilizando o procedimento PROC REG do SAS (1999). O modelo da regressão utilizado foi o seguinte:

$$y = \alpha + \beta x$$

Em que:

Y = proteína verdadeira do leite;

$\alpha$  = intercepto;

$\beta$  = é o coeficiente linear associado ao teor de proteína bruta;

X = é o teor de proteína bruta.

As análises foram realizadas utilizando-se do pacote estatístico Statistical Analysis System (SAS) (SAS Institute Inc., 2001). Os dados foram analisados usando o procedimento PROC MIXED do SAS (1999). A contagem de células somáticas foi transformada em logaritmo natural, pois não possui distribuição normal. Para todas as análises, utilizou-se nível de significância de 5%.



## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Composição média do leite

São apresentadas na Tabela 2 as concentrações médias dos componentes do leite e a contagem de células somáticas em função de cada uma das raças, ao longo do período estudado.

Tabela 2 – Média dos componentes do leite e contagem de células somáticas para cada uma das raças estudadas

Raça	n <sup>1</sup>	Componentes						
		Gordura (%)	Lactose (%)	NUL <sup>2</sup> (mg/dL)	PB <sup>3</sup> (%)	PV <sup>4</sup> (%)	PV/PB <sup>5</sup>	CCS <sup>6</sup> (mil cél./mL)
Holandesa	146	3,54 a	4,42 a	11,76 a	3,16 a	3,07 a	0,95	639 a
Jersey	59	3,97 b	4,30 b	9,43 a	3,30 b	3,11 a	0,96	567 a
Girolando	264	3,45 a	4,45 a	9,17 a	3,16 a	3,08 a	0,96	578 a
P <sup>7</sup>	-	< 0,05	0,0233	< 0,05	< 0,05	> 0,05	-	> 0,05
EPM <sup>8</sup>	-	0,0224	0,0081	0,0022	0,0090	0,0093	-	0,0178

<sup>1</sup> Número de observações; <sup>2</sup> nitrogênio uréico do leite; <sup>3</sup> proteína bruta; <sup>4</sup> proteína verdadeira; <sup>5</sup> relação entre proteína verdadeira (PV) e proteína bruta (PB); <sup>6</sup> contagem de células somáticas; <sup>7</sup> probabilidade do efeito da raça sobre os componentes do leite; <sup>8</sup> erro padrão da média. Médias seguidas de letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Dürr (2003) analisando o leite de tanques refrigeradores no Rio Grande do Sul, verificou que os teores médios de gordura variaram entre 3,47 e 3,80%. Ribas et al. (2003) verificaram teores médios de gordura na ordem de 3,69% em amostras de leite provenientes de tanques refrigeradores nos estados de Santa Catarina, Paraná e São Paulo entre 1998 e 2001. Brito et al. (2003) estudando rebanhos do Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro entre os anos de 2000 e 2002 encontraram um teor médio de gordura de 3,56%. Machado et al. (2003) avaliando amostras de leite no estado de São Paulo entre os anos de 1999 e 2003 encontraram um teor de gordura de 3,40%.

Estes resultados mostram uma variação bastante grande na média dos teores de gordura do leite em diferentes regiões, sendo que os valores obtidos no presente estudo e apresentados na Tabela 2 situam-se dentro deste intervalo e ainda atendem as exigências mínimas propostas pela IN-51 que determina que a concentração mínima de gordura em leite cru refrigerado seja de 3%.

O teor médio de lactose no leite foi de 4,42%, 4,30% e 4,45%, para a raça Holandesa, Jersey e Girolando, respectivamente. Em estudo sobre a qualidade do leite em tanques refrigeradores, Dürr (2003) encontrou teores variando de 4,35 a 4,66%, entre os anos de 2000 a 2002 no Rio Grande do Sul. Ribas et al., (2003) avaliando amostras de Santa Catarina, Paraná e São Paulo observaram um teor médio de 4,56% entre os anos de 1998 e 2001. Machado et al., (2003) encontraram teores de 4,55% para amostras de São Paulo entre 1999 e 2003. Brito et al., (2003) avaliando amostras do Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro, verificaram um teor médio de lactose de 4,59%.

No presente estudo o teor médio de lactose foi pouco inferior ao observado em outros estados e bastante inferior ao observado em outros países de pecuária leiteira desenvolvida, como citam Mühlbach et al., (2000) e Auld et al., (1998).

Jonker et al., (1998) defendem que os padrões de referência das concentrações de nitrogênio uréico no leite (NUL) podem variar entre 10 e 16 mg/dL de leite. Melendez et al., (2000) afirmam que vacas com concentração de NUL acima de 17 mg/dL têm maior risco de infertilidade. No presente estudo os teores de nitrogênio uréico do leite encontrados foram próximos a estes sugeridos por estes autores.

A porcentagem média de proteína bruta para a raça Holandesa foi semelhante à encontrada por Bajaluk et al. (1999), que foi de 3,14%. Para a raça Jersey esta porcentagem foi de 3,30%, valor inferior ao reportado por Ribas et al. (1999), que encontraram 3,68%, como pode ser observada na Tabela 2. Não foram encontrados resultados para comparação com relação à raça Girolando.

Estudos que avaliaram o teor de proteína bruta em amostras de leite provenientes de tanques refrigeradores em diferentes estados brasileiros, reportam teores variando de 2,95% a 3,24% (Ribas et al. (2003); Machado et al., (2003); Brito et al., (2003); Dürr, (2003); Martins et al., (2002). Assim, os valores obtidos no presente estudo encontram-se dentro do intervalo encontrado por estes autores e também se enquadram nas exigências mínimas propostas pela IN-51 que exige um teor mínimo de 2,9% de proteína no leite cru refrigerado.

A contagem de células somáticas média foi de 639, 567 e 578 mil células/mL de leite, para as raças, Holandesa Jersey e Girolando, respectivamente. Estas contagens correspondem aos seguintes escores de células somáticas: 2,81; 2,75 e 2,76, estes escores são inferiores aos observados por Ostrensky et al., (2000) que encontraram um escore de 4,46 em observações de

controle leiteiro mensal em 378 rebanhos do Paraná. Paula et al., (2003) analisando amostras de tanques refrigeradores dos estados de Santa Catarina, Paraná e São Paulo, observaram um escore de células somáticas de 4,84.

Desde 1992, em diferentes países, as indústrias de laticínios estabeleceram limites legais para a contagem de células somáticas para tanques refrigeradores (CCST). Países da União Européia, Nova Zelândia e Austrália adotaram como limite máximo 400.000 células/mL, enquanto Canadá e EUA adotaram limites um pouco superior a estes, 500.000 e 750.000 células/mL respectivamente (BRITO, 2003; RIBAS, 1999).

No Brasil, a IN-51 determinava para as regiões Sul, Sudeste e Centro Oeste, uma CCST máxima de 1.000.000 células/mL para o leite cru refrigerado a partir de 01/07/2005, este valor dera baixar para 750.000 a partir de 01/07/2008 e para 400.000 a partir de 2011. Os resultados médios de CCS encontrados para as três raças estudadas (Tabela 1) estão, atualmente, dentro dos limites propostos pela IN-51.

#### **4.2 Efeito da Contagem de Células Somáticas**

A Tabela 3 apresenta os resultados da contagem de células somáticas divididos em quatro classes: baixa (0-280 mil céls./mL), média baixa (281-500 mil céls./mL), média alta (501-780 mil céls./mL) e alta (>781 mil céls./mL) contagem de células somáticas.

Elevadas contagens de células somáticas têm efeitos conflitantes sobre a concentração total de proteína do leite (SANTOS; FONSECA, 2006). Nessas condições ocorre, normalmente, aumento na concentração de proteínas de origem sanguínea concomitante com a redução na concentração de caseína, resultando assim em alterações mínimas na concentração de proteína total do leite, mas com alguma alteração na concentração de proteína verdadeira, em função da redução da concentração de caseína. Tal fato pode ser explicado pela mudança na permeabilidade do tecido da glândula mamária infectada, permitindo que haja um maior fluxo de proteínas do sangue, principalmente albumina, para o leite (NG-KWAI-HANG et al., 1993).

Porém, diversos autores (VERDI et al., 1987; URECH et al., 1999; BARBANO et al., 2006) relatam algum incremento nas concentrações de proteína bruta, e uma redução nas concentrações de proteína verdadeira, sendo este devido, principalmente, ao decréscimo nos teores de caseína, fração esta que corresponde a cerca de 80% do teor de proteína verdadeira e que está diretamente relacionada com o rendimento industrial.

Tabela 3 – Valores médios de proteína verdadeira para as classes de contagem de células somáticas consideradas

Classes (mil céls./mL)	Proteína Bruta, % (EPM <sup>1</sup> )	Proteína Verdadeira, % (EPM <sup>1</sup> )	Relação PV/PB
Baixa (0-280)	3,15 (0,1200)	3,09a (0,1800)	0,95
Média Baixa (281-500)	3,17 (0,1400)	3,12a (0,1700)	0,96
Média Alta (501-780)	3,21 (0,1400)	3,16a (0,1700)	0,96
Alta (>781)	3,16 (0,1200)	3,13a (0,1600)	0,96

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. <sup>1</sup>erro padrão da média.

No presente estudo, no entanto, não podemos fazer tais afirmações, pois como se observa na Tabela 3, as concentrações de proteína não diferem estatisticamente ( $P > 0,05$ ) entre si, com o aumento da contagem de células somáticas. Este resultado contrasta com os obtidos por Noro et al., (2006), Pereira et al., (1999), Marques et al., (2002) que relataram incrementos na concentração de proteína com o aumento do escore linear de células somáticas.

Ma et al. (2000), estudando a composição do leite de vacas infectadas com *Streptococcus agalactiae*, observaram aumentos nos teores de proteína bruta e proteína verdadeira, no entanto quando estes teores foram expressos em quilogramas e computados 30% de redução na produção de leite dos animais infectados, houve perda significativa destes componentes.

#### 4.3 Efeito da Sazonalidade

As médias mensais da proteína bruta, proteína verdadeira e do nitrogênio não-protéico do leite no período estudado estão apresentadas na Figura 1.

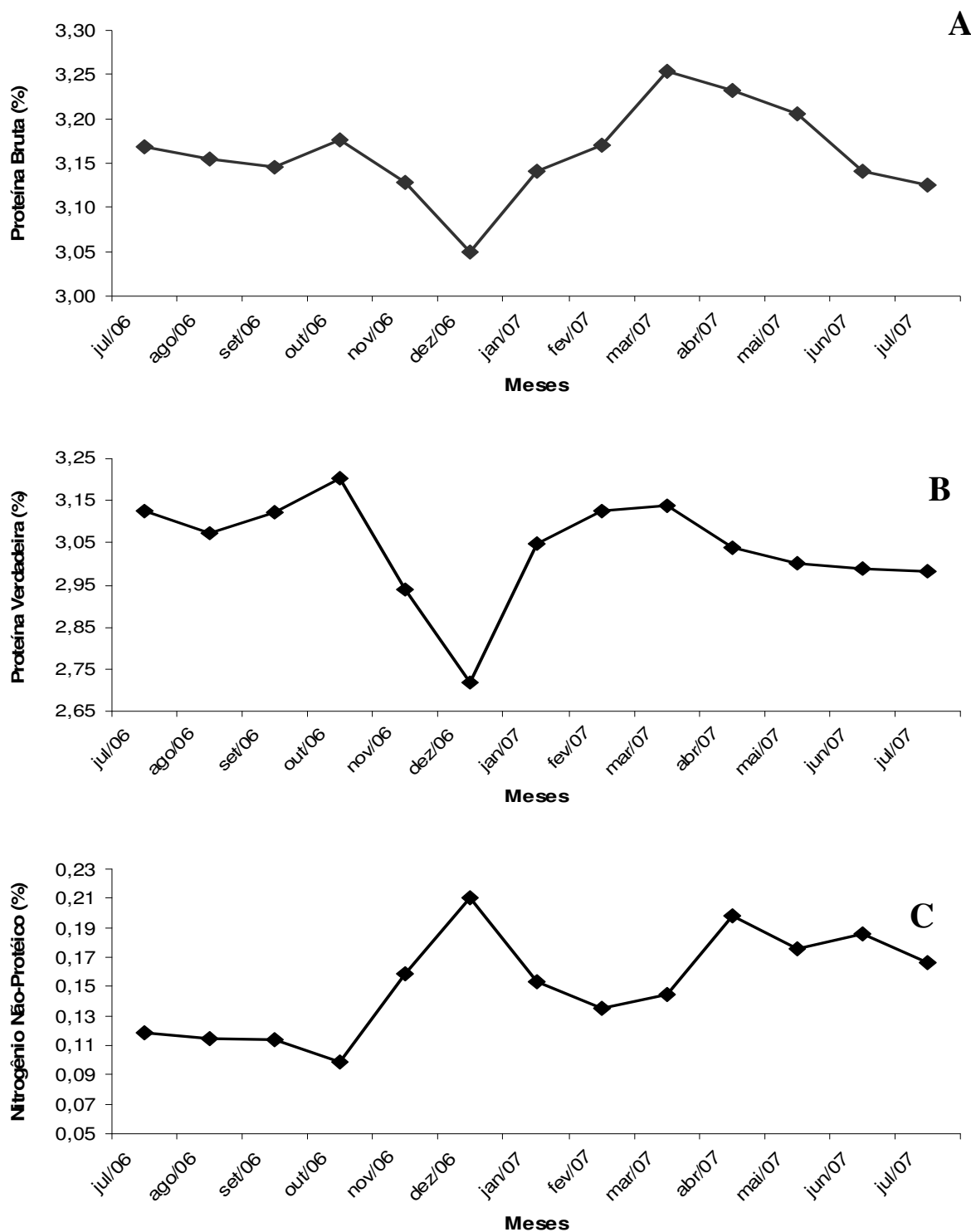


Figura 1 – Variação mensal da fração protéica e do nitrogênio não-protéico do leite (julho de 2006 a julho de 2007). A) variação da proteína bruta; B) variação da proteína verdadeira; C) variação de nitrogênio não-protéico

As maiores concentrações de proteína bruta foram observadas nos meses de março abril e maio, e as menores concentrações se deram nos meses de julho, agosto e setembro, sendo os teores ao redor de 3,25% e 3,05% respectivamente. Estes resultados concordam com os obtidos por Machado e Cassoli (2006), que reportaram variações nos teores de proteína bruta da ordem de 3,27% para os meses de abril e maio e de 3,07% para os meses de agosto e setembro. O teor de proteína verdadeira se comportou de modo inverso à proteína bruta, apresentando os maiores teores nos meses de primavera e os menores teores nos meses de outono e inverno, como pode ser observado na Tabela 4. Este resultado está de acordo com os obtidos por Gonzalez et al., (2004), que também relatam maiores teores de proteína verdadeira nos meses de primavera e verão.

Tabela 4 – Valores médios de proteína verdadeira (PV) para as quatro estações (primavera, verão, outono e inverno)

Estação	PB, % (EPM <sup>1</sup> )	PV, % (EPM <sup>1</sup> )	Relação PV/PB (%)
Primavera	3,14a (0,0140)	3,09a (0,0070)	0,96
Verão	3,11ac (0,0130)	3,07ac (0,0060)	0,96
Outono	3,02b (0,0120)	3,05b (0,0060)	0,95
Inverno	3,09c (0,0090)	3,08c (0,0050)	0,96

Médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. <sup>1</sup>erro padrão da média.

Quando as estações foram separadas apenas em duas: chuvosa e seca, os resultados foram semelhantes, sendo que os maiores teores de proteína verdadeira foram observados na estação chuvosa, como pode ser observado na Tabela 5.

Esta variação no teor de proteína pode ser explicada pelo fato da maioria dos rebanhos estudados terem seus animais em sistema de pastejo (sistema semi-confinado). A melhor oferta de forragem é observada na primavera e início do verão (FREDEEN, 1996). Makle et al., (1999), na Nova Zelândia, encontraram maiores teores de caseína em pastagens de verão e utilização de concentrados, sendo que a concentração de caseína declinou quando houve restrição de pasto, assumindo que a caseína corresponde a cerca de 80% da proteína verdadeira, podemos assumir que a proteína verdadeira tenha um comportamento semelhante.

Fredeen (1996) afirma também que a melhoria do nível nutricional pode aumentar a produção de ácido propiônico, com efeito poupador nos aminoácidos no metabolismo intermediário, elevando a quantidade dos aminoácidos disponíveis para síntese protéica na glândula mamária.

Tabela 5 - Valores médios de proteína verdadeira (PV) para duas estações (seca e chuvosa)

Estação	PV média (%) <sup>1</sup>	EPM <sup>2</sup>
Seca	3,06 <sup>a</sup>	0,0101
Chuvosa	3,08 <sup>b</sup>	0,0095

Médias seguidas por letras diferentes, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

<sup>1</sup>proteína verdadeira; <sup>2</sup>erro padrão da média.

Em muitos casos o teor de proteína do leite tem sido superestimado devido a adoção de um fator de conversão (6,38) do nitrogênio total medido, que assume que o leite contém cerca de 15,67% de nitrogênio, não levando em consideração possíveis variações da fração nitrogênio não-protéico (NG-KWAI-HANG, 1985). No presente estudo, foi constatado efeito significativo ( $P < 0,0001$ ) do teor de nitrogênio não-protéico sobre o teor de PV, de modo inverso, ou seja, à medida que este aumentava, o teor de PV diminuía como pode ser observado na Figura 1 B e 1 C.

#### 4.4 Efeito de Raça

Os valores médios de proteína verdadeira para as três raças estudadas estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Valores médios de proteína verdadeira as raças estudadas

Raça	$n^1$	Proteína Verdadeira	EPM <sup>2</sup>
Holandesa	146	3,07 <sup>a</sup>	0,0100
Jersey	59	3,11 <sup>a</sup>	0,0200
Girolando	264	3,08 <sup>a</sup>	0,0070

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5%. <sup>1</sup>número de observações. <sup>2</sup>erro padrão da média.

Cerbulis e Farrell Jr (1974) relataram teores de proteína verdadeira maiores para a raça Jersey em comparação com a raça Holandesa. No mesmo estudo os autores relatam que houve diferença altamente significativa ( $P < 0,001$ ) entre as raças.

No presente estudo, a raça Jersey apresentou teores ligeiramente superiores aos das outras raças estudadas, porém, como podem ser observados na Tabela 5, os teores de proteína verdadeira, não diferiram entre si para as raças estudadas ( $P < 0,2336$ ).

Observando-se a Figura 2, percebe-se que os teores de nitrogênio não-protéico (NNP) para a raça Holandesa foram maiores que os das demais raças em sete dos treze meses estudados. Quando se comparam os teores de proteína verdadeira da raça Jersey com a raça Holandesa, percebe-se que os teores da primeira são maiores que os da segunda, podendo ser a porcentagem de NNP, o responsável por esta diferença. Lembrando, mais uma vez, que o NNP representa em média 5% do nitrogênio total presente no leite, representando cerca de 0,18g de proteína em 100g de leite (CERBULLIS; FARRELL 1974).

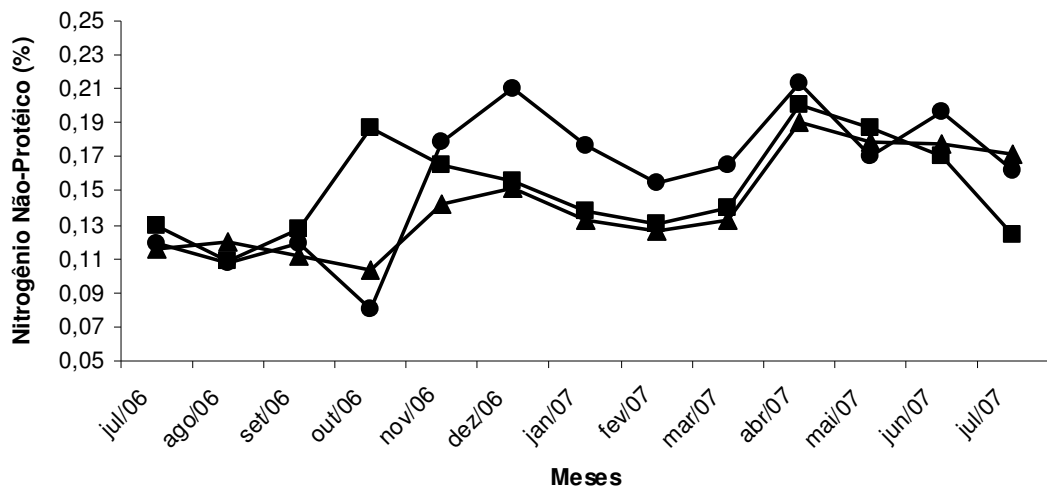


Figura 2 - Variação da porcentagem de nitrogênio não-protéico para cada uma das raças estudadas. (●) raça Holandesa; (■) raça Jersey; (▲) raça Girolando

#### 4.5 Efeito do Sistema de alimentação

No presente estudo somente a raça Holandesa apresentava animais nos dois sistemas estudados (confinado e semi-confinado), sendo, portanto, a única raça estudada para este efeito.



Os valores médios para o teor de proteína verdadeira nos dois sistemas de alimentação, estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Relação sistema de alimentação *versus* proteína verdadeira (PV) para a raça Holandesa

Sistema de alimentação	PV <sup>1</sup> média	EPM <sup>2</sup>
Confinado	3,08 <sup>a</sup>	± 0,0200
Semi-confinado	3,06 <sup>a</sup>	± 0,0100

Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. <sup>1</sup>PV: proteína verdadeira; <sup>2</sup>EP: erro padrão da média.

Na Figura 3 é observada a variação da proteína verdadeira (PV) nos dois sistemas estudados ao longo dos meses, nos dois sistemas é observado comportamento semelhante, embora o sistema da alimentação confinado tenha apresentado maiores teores de PV, não foi observado efeito do tipo de sistema sobre o teor de PV ao longo do ano em estudo ( $P = 0,4029$ ). Gonzalez et al. (2004) reportaram comportamento semelhante avaliando três sistemas de produção no Rio Grande do Sul, relataram também que não houve efeito dos meses do ano nem do tipo de sistema sobre o teor de PV.

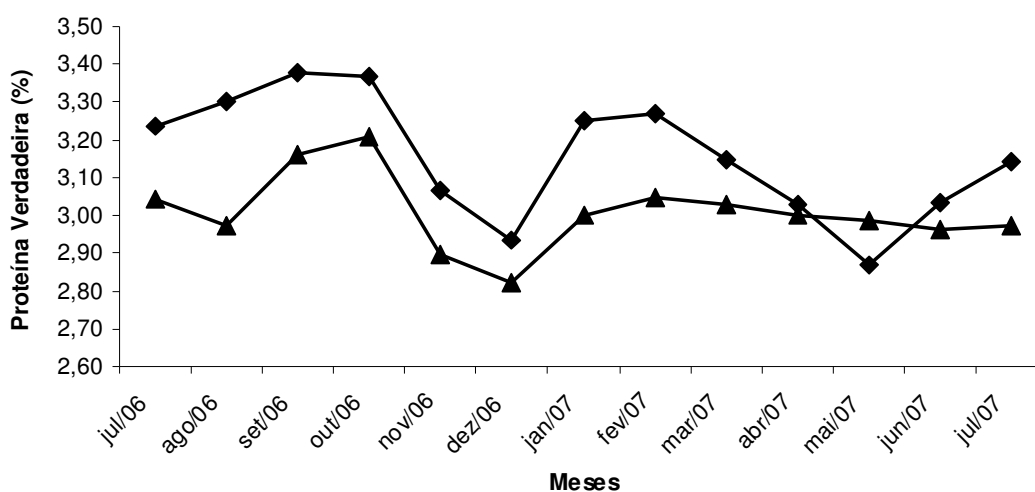


Figura 3 - Variação da proteína verdadeira para os dois sistemas de alimentação estudados ao longo do ano. (■) sistema confinado; (▲) sistema semi-confinado

Esta queda no teor de proteína verdadeira ocorrida no mês de dezembro pode ser atribuída, provavelmente, ao estresse calórico sofrido pelos animais. Neste período por cerca de 12 dias a temperatura ambiente esteve acima de 30°C (CIIAGRO, 2008), sendo que para animais da raça Holandesa, os limites térmicos da zona de conforto variam de -1°C a 21°C e a zona de termoneutralidade situa-se em 27°C (PORTUGAL, et al., 2000). Os limites ideais de umidade relativa do ar variam entre 60-70% (MÜLLER, 1989). Elevadas umidades relativas, associadas a altas temperaturas, podem causar estresse térmico, prejudicando dessa forma a produtividade, uma vez que irá afetar o consumo dos animais (ARMSTRONG, 1994). Em dezembro, na região, a precipitação foi de 350 mm, resultando em uma umidade relativa do ar acima de 80% em quase todo o mês, proporcionando uma situação de estresse para os animais.

Mattos (1995) comenta a diferença entre sistemas de alimentação e sua influência na produção de leite. Cita também que sistemas intensivos (confinados), que fazem uso silagens e pastagens produzidas adequadamente apresentaram maiores produções e que sistemas extensivos (semi-confinados), que fazem uso somente de pastagens, apresentaram as menores produções. O mesmo autor comenta que no primeiro caso, os alimentos fornecidos aos animais são de melhor qualidade nutricional que os fornecidos aos animais no sistema extensivo, tendo produtor maior controle sobre os nutrientes que o animal consome.

Devido à baixa qualidade da maioria das pastagens brasileiras, resultante principalmente do manejo inadequado, pode-se afirmar que os animais mantidos em tais sistemas apresentariam leite com teor de proteína verdadeira inferior àquele produzido por animais mantidos em outros sistemas, como no caso de sistemas confinados, intensivos, como descritos por Mattos (1995). Auld et al., (1998) citam que tal variação pode ser devida principalmente por menor aporte de amino ácidos para a síntese de caseína. Sendo, portanto, a variação na composição dos alimentos fornecidos aos animais um fator importante na variação da proteína verdadeira.

#### **4.6 Correlação entre os métodos padrão e automatizado**

Os resultados das análises para os teores de proteína pelos métodos: automatizado e Kjeldahl (padrão) não foram estatisticamente diferentes entre si ( $P > 0,05$ ). A correlação entre os dois métodos foi positiva ( $r^2 = 0,7996$ ). Este resultado, embora inferior, concorda com o encontrado por Silveira et al. (2004), que encontraram correlação também positiva entre estes métodos com  $r^2 = 0,98$ . Grappin, (1992), cita que a diferença entre o método automatizado e

padrão, pode ser devido à fração de nitrogênio não-protéico, afirmando também que tal fato se deve a não absorção desta fração pelo método automatizado, ou ainda porque o nitrogênio não-protéico é absorvido de maneira significativamente diferente das outras frações nitrogenadas, e neste caso, o sinal do equipamento é influenciado pela variação desta fração.

A correlação entre os métodos pode ser observada na Figura 4.

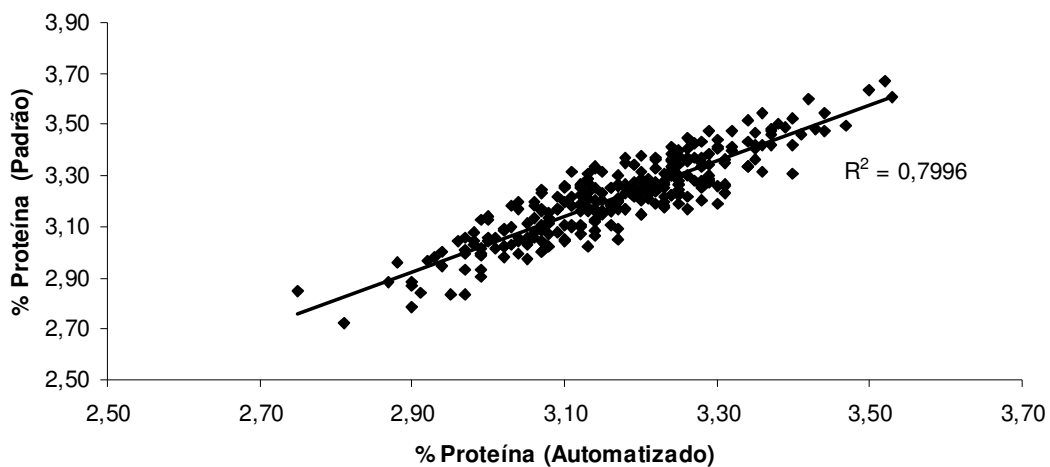


Figura 4 - Correlação entre os métodos padrão (Kjeldahl) e automatizado (infravermelho) para os teores de proteína bruta

Com os resultados apresentados e discutidos nos itens anteriores e com esta boa correlação entre os métodos, foi possível elaborar uma equação de predição do teor de proteína verdadeira a partir dos teores de proteína bruta. A equação proposta apresentou um  $r^2 = 0,9373$ , indicando uma excelente correlação entre os teores calculados e os medidos pelo método padrão. A correlação entre os teores de proteína verdadeira calculados pela equação e os teores medidos pelo método padrão (Kjeldahl) podem ser observados na Figura 5. A análise estatística mostrou que os teores encontrados pela equação estão altamente correlacionados ( $P < 0,0001$ ) com aqueles encontrados pelo método padrão.

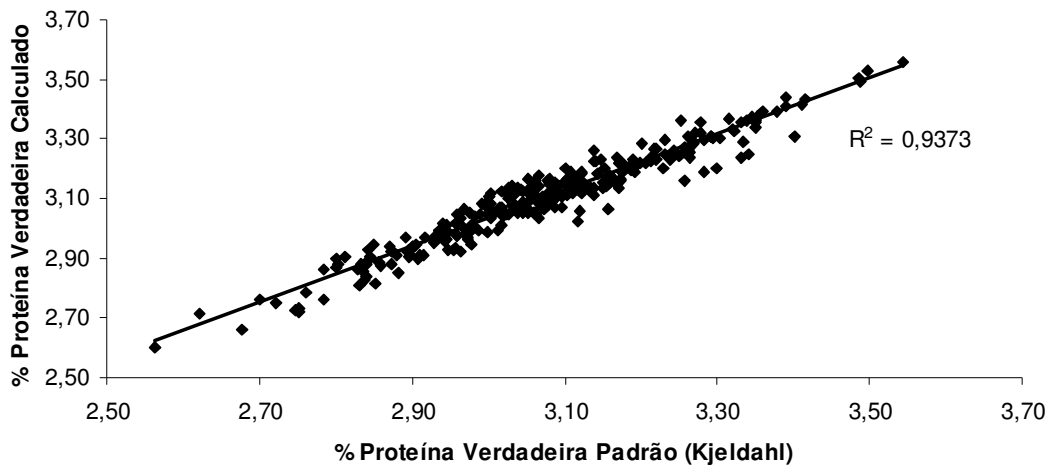


Figura 5 - Correlação entre os teores de proteína verdadeira calculado e os teores medidos através do método padrão (Kjeldahl)

A equação proposta foi a seguinte:

$$PV = -0,017655 + (1,01043 \times PB) + 0,01556 \quad (1);$$

Onde:

PV é o teor de proteína verdadeira;

PB é o teor de proteína bruta pelo método automático;

0,01556 é o erro apresentado pelo modelo.

Nesta equação somente foram considerados os efeitos significativos. No entanto, o efeito da estação do ano sobre o teor de proteína verdadeira, embora significativo, não teria implicações práticas, uma vez que a variação nos teores de proteína verdadeira foi mínima não implicando, portanto, em mudança na classe de pagamento dos produtores. Sendo assim, este efeito não foi considerado na equação.

O teor de nitrogênio não-protéico apresentou efeito significativo sobre o teor de proteína verdadeira, conforme apresentado anteriormente. Grappin (1992) cita o teor de nitrogênio não-protéico como um dos fatores que devem ser levados em consideração na análise e expressão dos teores de proteína do leite.

Sendo assim, uma segunda equação foi proposta, agora, considerando o teor de nitrogênio não-protéico. Esta segunda equação apresentou um coeficiente de determinação de 82% ( $r^2 = 0,8269$ ).

$$PV = -0,1862 + (1,0869 \times PB) - (1,2895 \times NNP) + 0,0687 \quad (2);$$

Onde:

PV é o teor de proteína verdadeira;

PB é o teor de proteína bruta pelo método automatizado;

NNP é o teor de nitrogênio não-protéico;

0,0687 é o erro apresentado pelo modelo.

O mesmo autor comenta que vários estudos realizados na França demonstraram a desvantagem em se utilizar o teor de proteína bruta nos sistemas de pagamento por proteína, devido às grandes variações que tal teor sofre por intermédio da fração nitrogênio não-protéico, que tem pouco ou nenhum valor nutricional e comercial. A proteína bruta inclui ambas as frações de proteína (a proteína verdadeira e a fração de nitrogênio não-protéico). Utilizando a proteína bruta ao invés da proteína verdadeira como base de calibração dos equipamentos de análise de leite, a indústria aceita certas imprecisões nas determinações dos teores de proteína (BARBANO; LYNCH, 1991), podendo estar penalizando os produtores ou mesmo sendo penalizada, ou seja, pagando por um teor incorreto de proteína, resultado que somente será percebido no rendimento industrial.

## **5 CONCLUSÕES**

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que os rebanhos avaliados atenderam às exigências mínimas de composição e contagem de células somáticas propostas pela IN-51.

As diferenças observadas nos teores de proteína verdadeira, quando considerados os efeitos da época do ano, raça, sistema de alimentação e contagem de células somáticas, não foram significativas, o que permitiu a formulação de uma equação, a qual possibilita determinar a proteína verdadeira de forma simplificada.

Ao utilizar o teor de proteína verdadeira, a diferença entre o método automatizado e o de referência diminuiu, pelo fato de se eliminar a interferência negativa da fração nitrogênio não-protéico dos resultados.

## REFERÊNCIAS

ABREU, L.R. **Tecnologia de leite e derivados**. Lavras: UFLA, 2000. 205p.

Associação Brasileira de Indústrias de Queijo – **ABIQ Notícias**. Disponível em: <<http://www.abiq.com.br/>>. Acesso em: 05 mar. 2006.

ALLORE, H.G.; OLTENACU, P.A.; ERB, H.N. Effects of season, herd size, and geographic region on the composition and quality of milk in the Northeast. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.80, p.3040-3049, 1997.

ANDREWS, A. T. Proteinases in normal bovine milk and their action on caseins. **Journal of Dairy Research**, London, v.50, p.45-55, 1983.

AQUINO, A. A.; BOTARO, B. G.; IKEDA, F. S.; SANTOS, M. V. Efeito de níveis crescentes de uréia na dieta de vacas em lactação sobre produção, composição e qualidade do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, p.881-887, 2007.

ARMSTRONG, D.V. Heat stress interaction with shade and cooling. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.77, p.2044-2050, 1994.

AULDIST, M.J.; COATS, S.; ROGERS, G.L.; McDOWELL, G.H. Changes in the composition of milk from healthy and mastitic dairy cows during the lactation cycle. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Sidney, 35, p.427-436, 1995.

AULDIST, M.J.; HUBBLE, I.B. Effects of mastitis on raw milk and dairy products. **Australian Journal Dairy Technology**, Sidney, v. 53, p. 28 – 36, 1998.

AULDIST, M.J.; WALSH, B.J.; THOMSON, N.A. Seasonal and lactational influences on bovine milk composition in New Zealand. **Journal of Dairy Research**, Londres, n.65, p.401-411, 1998.

BAJALUK, S.A.B; RIBAS, N.P.; MONARDES, H.G. Efeito de fatores ambientais sobre a produção de leite, percentagem de gordura e percentagem de proteína em vacas da raça Holandesa no estado do Paraná. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., Porto Alegre, 1999. **Anais...** Disponível em: <[http://www.sbz.org.br](http://www.sbz.org.br/)>. Acesso em: 20 jan. 2008.

BANKS, J. M. Nutritional factors affecting cheese yield. In: LAWRENCE, R. C. (Ed.). **Practical guide for control of cheese yield**. Bruxelles: International Dairy Federation Publications, Nutritional factors affecting cheese yield, 2000. 1v..

BARBANO, D. M.; CLARK, J. L.; DUNHAM, C. E. Kjeldahl method for determination of total nitrogen-content of milk – Collaborative Study. **Journal of the Association of Analytical Chemists**, London, v.73, n.6, p.849-859, 1990.

BARBANO, D.M.; RASMUSSEN, R.R.; LYNCH, J.M. Influence of milk somatic cell count and milk age on cheese yield. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 74, p. 369-388, 1991.

BARBANO, D.M.; LYNCH, J.M. Crude and protein nitrogen bases for protein measurement and their impact on current testing accuracy. In: BORDEN SYMPOSIUM: Effect of new milk protein determination technologies on the dairy industry crude *versus* true protein. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 75, p. 3210 - 3217. 1992.

BARBANO, D. M. Influence of mastitis on cheese manufacture. In: LAWRENCE, R.C. (Ed.). **Practical guide for control of cheese yield**. Bruxelles: International Dairy Federation, 1999. (Publications, 9901)

BARBANO, D. M., MA, Y., SANTOS, M. V., Influence of raw milk quality on fluid milk shelf life. **Journal of Dairy Science**, Savoy, n.89 (E. suppl.) p.E15-E19, 2006

BARGO, F.; MULLER, L.D.; DELAHOY, J.E.; CASSIDY, T.W. Performance of high producing dairy cows with three different feeding systems combining pasture and total mixed rations. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 85, p. 2948–2963, 2002.

BEAUSEJOUR, M. Payments systems for ex-farm milk. **Bulletin of the International Dairy Federation**, Bruxelles, n. 379, 65p, 2002.

BENTLEY INSTRUMENTS, Bentley 2000 operator's manual. Chaska. 77p. 1995

BENTLEY INSTRUMENTS, Somacount 300 operator's manual. Chaska, 12p. 1995.

BLECK, G. T.; BREMEL, R. D. Correlation of the alpha-lactalbumin (+15) polymorphism to milk production and milk composition of Holsteins. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.76, n.8, p.2292-2298, 1993.



BOVENHUIS, H.; VAN ARENDONK, J.A.M., Estimation of milk protein gene frequencies in crossbred cattle by maximum likelihood. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.74, p. 2728-2736, 1991

BRASIL. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Estabelece o regulamento fixar os requisitos mínimos que devem ser observados para a produção, a identidade e a qualidade do leite. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 18 de setembro de 2002. Seção 1, p.13-22.

BRESSAN, M., CARVALHO, L.A. (Ed.) **Sustentabilidade da pecuária de leite no Brasil: qualidade e segurança alimentar.** , Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2001. p.17-38.

BRITO, J.R.F. ; SOUZA, G.N. ; BRITO, M.A.V.P. Panorama da qualidade do leite na região Sudeste : Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro. In : BRITO, J.R.F. ; PORTUGAL, J.A.B. (Eds) **Diagnóstico da qualidade do leite, impacto para a indústria e a questão dos resíduos de antibióticos.** Juiz de Fora : Embrapa Gado de Leite, 2003. p.47-62.

BRITO, M. A.V.P. ; BRITO, J.R. ; ARCURI, E. ; LANGE, C. ; SILVA, M. ; SOUZA, G. **Pagamento por qualidade, EMBRAPA Gado de Leite.** Disponível em: <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01\\_209\\_21720039247.htm](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_209_21720039247.htm)>. Acesso em: 25 jun. 2007.

BRITO, J.R.F.; BRITO, M.A.V.P. Qualidade do leite brasileiro e desafios para atendimento das exigências internacionais. In: Zoccal, R.; Arociva, L.J.M.; Martins, P.C. et al. Leite: uma cadeia produtiva em transformação. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite. 2004, p. 235-243.

BRODERICK, G. A.; CLAYTON, M. K. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.80, n.11, p.2964-2971, 1997.

BUGAUD, C.; BUCHIN, S.; COULON, J. B.; HAUWUI, A.; DUPONT, D. Influence of the nature of alpine pastures on plasmin activity, fatty acids and volatile compound composition of milk. **Lait**, Berna, v. 81, n.3, p.401-414. 2001a.

BUGAUD, C.; BUCHIN, S.; NOEL, Y.; TESSIER, L.; POCHE, S.; MARTIN, B.; CHAMBA, J. F. Relationship between Abundance cheese texture, its composition and that of milk produced by cows grazing different types of pastures. **Lait**, Berna, v.81, n.5, p.593-607. 2001b.

CAFFIN, J.P.; POUTREL, B.; RAINARD, P. Physiological and pathological factors influencing bovine  $\alpha$ -lactalbumin and  $\beta$ -lactoglobulin concentrations in milk. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.68, p.1087-1094, 1985.

CAMPOS, R.; GONZÁLES, F.; COLDEBELLA, A.; CARDOSO, F. Indicadores do ambiente ruminal e suas relações com a composição do leite e células somáticas em diferentes períodos da primeira fase da lactação em vacas de alta produção. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.2, p.525-530, mar./abr, 2006.

CARTER, D. C.; HO, J. X. Structure of serum albumin. **Advances in Protein Chemistry**, Londres, v.45, p.153-203, 1994.

CARVALHO, L.A. (Ed.) **Sustentabilidade da pecuária de leite no Brasil: qualidade e segurança alimentar**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2001. p.17-38.

CARVALHO, M.P.; SANTOS, M.V. **O compromisso com a qualidade do leite no Brasil**. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo – Ed. Universitária, 2004. 331p.

CASSOLI, L.D., **Validação da metodologia de citometria de fluxo para validação da contagem bacteriana do leite cru**. 2005. 46p, Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagem) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

CERBULIS, J.; FARRELL, H. M. Composition of milks of dairy cattle: protein, lactose, and fat contents and distribution of protein fraction. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.58, n.6, p.817-827, 1974.

CHRYSINA, E. D.; BREW, K.; ACHARYA, K. R. Crystal structures of apo- and holo-bovine  $\alpha$ -lactalbumin at 2,2-Å resolution reveal an effect of calcium on inter-lobe interactions. **Journal of Biologic Chemistry**, London, v.275, p.37021-27029, 2000.

CIIAGRO, Centro integrado de informações agrometeorológicas. Disponível em: <<http://www.ciiagro.sp.gov.br/>>. Acesso em: 25 fev. 2008.

COSTA, E.O. Resíduos de antibióticos no leite: um risco à saúde do consumidor. **Higiene Alimentar**, Campinas, v.44, n.10, p.15-17, 1996.

COULON, J.B.; HURTAUD, C.; REMOND, B.; VERITE, R. Factors contributing to variation in the proportion of casein in cows' milk true protein: a review of recent INRA experiments. **Journal of Dairy Research**, London, v. 65, n.3, p. 375-387, 1998.

COULON, J.B.; DUPONT, D.; POCHE, S.; PRADEL, P.; DUPLOYER, H. Effect of genetic potential and level of feeding on milk protein composition. **Journal of Dairy Research**, London, v. 68, p. 569-577, 2001.

COULON, J.B.; GASQUI, P.; BARNOUIN, J.; OLLIER, A.; PRADEL, P.; POMIÈS, D. Effect of mastitis and related-germ on milk yield and composition during naturally-occurring udder infection in dairy cows. **Journal of Animal Research**, London, v.51, p. 383-393, 2002.

CULLOR, J.S. Antibiotic residue test for mammary gland secretion. **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Montreal, v.9, n.3, p.609-620, 1993.

DAVIES, D. T.; LAW, A. J. R. The content and composition of protein in creamery milks in south-west Scotland. **Journal of Dairy Research**, London, v.47, p.83-90, 1980.

DePETERS, E. J.; CANT, J. P. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: a review. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 75, n. 8, p. 2043-2070, 1992.

DePETERS, E.J.; FERGUSON, J.D., Nonprotein nitrogen and protein distribution in the milk of cows. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.75, p. 3192-3209, 1992

DOVC, P. Genetic polymorphisms in milk protein genes and their impact in milk composition. **Biology of mammary gland**, London, v.480, p.225-230, 2000.

DÜRR, J. W. Panorama da qualidade do leite na Região Sul (RS). In: BRITO, J.R.F. e PORTUGAL, J.A.B. (Eds) **Diagnóstico da Qualidade do leite, impacto para a indústria e a questão dos resíduos de antibióticos**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2003. p.9-18.

DÜRR, J.W. Programa nacional de melhoria da qualidade do leite: uma oportunidade única. In: Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite, 2004, Passo Fundo. **Anais...** Passo Fundo : 2004. v. 1. p. 38-55.

DÜRR, J.W. **Como produzir leite de alta qualidade**. Brasília, SENAR, 2005. 60p.

EIGEL, W. N.; BUTLER, J.E.; ERNSTROM, C. A.; FARRELL JR, H.M.; HARWALKAR, V.R.; JENNESS, R.; WHITNEY, R.M. Nomenclature of proteins of cow's milk: fifth revision. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.67, p.1599-1631, 1984.

EMBRAPA. **Sistema de produção de leite (cerrado)**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Leite/LeiteCerrado/autores.html>>, Acesso em: 25 jun. 2007.

EMMONS, D.B.; ERNSTROM, C.A.; LACROIX, C.; VERRET, P. Predictive formulas for yield of cheese from composition of milk: a review. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 73, p. 1365 – 1394, 1990.

EMMONS, D. B.; KERTZ, A. F. Introduction. In: Borden symposium: effect of new milk protein determination technologies on the dairy industry crude versus true protein. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.75, p.3191, 1992.

EMMONS, D. B; SAUVÉ, P. Relationship between IR measurements using calibrations for total protein or “true” protein. In: Protein definition. **International Dairy Federation**, Bruxelles, n. 9403, 87p, 1994.

FARRELL JR., H. M., KUMONSINSKI, T. F.; COOKE, P. H. Particle sizes of purified  $\kappa$ -casein: Metal effect and correspondence with predicted three-dimensional structures. **Journal of Protein Chemistry**, London, v.15, p.435-445, 1996.

FARRELL JR., H. M.; Qi, P. X.; BROWN, E. M. Molten globule structures in milk proteins: Implications for potential new structure-function relationships. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.85, p.459-471, 2002.

FARRELL JR., H. M.; JIMENEZ-FLORES, R.; BLECK, G. T.; BROWN, E.M.; BUTLER, J.E.; CREAMER, L.K.; HICKS, L.C.; HOLLAR, C.M.; NG-KWAI-HANG, K.F.; SWAISGOOD, H.E. Nomenclature of the proteins of cow's milk – Sixth Review. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 87, p.1641-1674, 2004.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do Leite e Controle de Mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 176 p.

FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H. Milk proteins. In: \_\_\_\_\_. **Dairy Chemistry and Biochemistry**. London: Thomson Science, 1998. cap.4, p.146-237.

FREDEEN, A. H. Consideration in nutritional modification of milk composition. **Animal Feed Science and Technology**, Quebec, v. 59, p.185-187, 1996.

GODDARD, M. Genetics to improve milk quality. **Australian Journal of Dairy Technology**. Sidney, v.56, n.2, p.166-170, 2001.

GOMES, S.T. Transformações na cadeia do leite. DER, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, n.98, abr., 1997.

GONZALEZ, H. L.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M. E. R. Avaliação da qualidade do leite na bacia leiteira de Pelotas, RS. Efeito dos meses do ano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.33, n.6, p.1531-1543, 2004.

GRAPPIN, R. Bases and experiences of expressing the protein content of milk – France. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.75, p.3221-3227, 1992.

GROSCALUDE, F.; MAHÉ, M. F.; RIBADEAU-DUMAS, B. Primary structure of  $\alpha_{s1}$ -casein. **European Journal of Biochemistry**, Paris, v.40, p.323-324, 1973.

GROVES, M. L.; WICKHAM, E. D.; DOWER, H. J.; FARRELL JR., H. M. Environmental effects on disulfide bonding patterns of bovine  $\kappa$ -casein. **Journal of Protein Chemistry**, London, v.11, p.73-84, 1998.

HARDING, F. Bases and experiences of expressing the protein content of milk – England and Wales. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.75, p.3218-3220, 1992.

HIIL, J. P.; BOLAND, M. J.; CREAMER, L. K. Effect of the bovine beta-lactoglobulin phenotype on the properties of beta-lactoglobulin, milk composition and dairy products. In: PARRIS, N. (Ed.). **Macromolecular interactions in food technolog**. Washington: American Chemical Society, 1996. v.650, p.281-294. (ACS Symposium Series).

IBARRA, A.A. Sistema de pagamento do leite por qualidade – visão global. In: Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite, 2004, Passo Fundo, RS. **Anais...** Passo Fundo, 2004. p.72-87.

JONKER, J.S.; KOHN, R.A; ERDMAN, R.A. Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.81, n.10, p.2681-2692, 1998.

KAUFFMAN, A.J.; St-PIERRE, N.R. The relationship of milk urea nitrogen to urine nitrogen excretion in Holstein and Jersey cows. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.84, p. 2284-2294, 2001

KITCHEN, B. J. Review of the progress of dairy science: bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests. **Journal of Dairy Research**, London, 48: 167-188, 1981.

KLEI, L.; LYNCH, J.; BARBANO, D.; OLTERNACU, P.; LEDNOR, A.; BANDLER, D. Influence of milking three times a day on milk quality. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 80, p. 427-436, 1997.

KLEI, L.; YUN, J.; SAPRU, A.; LYNCH, J.; BARBANO, D.; SEARS, P.; GALTON, D. Effects of milk somatic cell count on cottage cheese yield and quality. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 81, p. 1205-1213, 1998.

KONTOPIDIS, G.; HOLT, C.; SAWYER, L. Invited review: beta-lactoglobulin: Binding properties, structure and function. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.87, n.4, p.785-796, 2004.

LACROIX, C.; PAQUIN, P.; VERRET, P. Regional and seasonal variations of nitrogen fractions in cheese milk in Quebec. In: IDF SEMINAR ON CHEESE YIELD AND FACTORS AFFECTING ITS CONTROL. **Proceedings...** Bruxelles: **International Dairy Federation**, Bruxelles, n. 9402, 540p, 1994.

LACROIX, C.; VERRET, P.; PAQUIN, P. Regional and seasonal variations of nitrogen fractions in commingled milk. . **International Dairy Journal**, London, v. 6, p. 947 – 961, 1996.

LESCOURRET, F.; COULON, J.B. Modeling the impact of mastitis on milk production by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 77, p. 2289-2301, 1994.

LIMA, M.C.G.; SENA, M.J.; MOTA, R.A.; MENDES, E.S.; ALMEIDA, C.C.; SILVA, R.P.P.E. Contagem de células somáticas e análises físico-químicas e microbiológicas do leite cru tipo C produzido na região agreste do estado de Pernambuco. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.1, p.89-95, jan./mar., 2006.

LINDMARK-MÅNSSON, H.; FONDEN, R.; PETTERSSON, H. Composition of Swedish dairy milk. **International Dairy Journal**, Londres, Inglaterra, v. 13, p. 409 – 425, 2003.

LOOPER, M.L.; STOKES, S.R.; WALDNER, D.N.; JORDAN, E.R. Managing milk composition: normal sources of variation. **Cooperative Extension Service. College of Agriculture and Home Economics.** New Mexico State University, 2001. 100p.

MA, Y.; RYAN, C.; BARBANO, D.M.; GALTON, D.M.; RUDAN, M.A.; BOOR, K.J. Effects of somatic cell count on quality and shelf-life of pasteurized fluid milk. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 83, p. 264-274, 2000.

MACHADO, P.F.; PEREIRA, A.R.; SARRIES, G.A. Composição do Leite de Tanques de Rebanhos Brasileiros Distribuídos Segundo sua Contagem de Células Somáticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v. 29, n. 6, p. 1883-1886, 2000.

MACHADO, P.F. Panorama da qualidade do leite na região Sudeste: São Paulo. In: BRITO, J.R.F.; PORTUGAL, J.A.B. (Ed.) **Diagnóstico da qualidade do leite, impacto para a indústria e a questão dos resíduos de antibióticos**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2003. p.39-48.

MACHADO, P.F.; CASSOLI, L.D. Diagnóstico da qualidade do leite na região Sudeste. In: MESQUITA, A.J.; DÜRR, J.W.; COELHO, K.O. (Org.). **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia: Talento, 2006. cap. 4 p.55-72.

MADALENA, F.E.; Valores econômicos para a seleção de gordura e proteína do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v.29, n.3, p. 678-684, 2000.

MAHÉ, M. F.; MIRANDA, G.; QUEVAL, R.; BADO, A.; ZAFIDRAJAONA, P. S.; GROSCLAUDE, F. Genetic polymorphism of milk proteins in African *Bos taurus* and *Bos indicus* populations. Characterization of variants alpha s<sub>1</sub>-casein H and kappa-casein J. **Genetics Selection Evolution**, Quebec, v.31, n.3, p.239-253, 1999.

MAKLE, T.R.; BRYANT, A.M.; PETCH, S.F. Nutritional influences on the composition of milk from cows of different protein phenotypes in New Zealand. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.82, p.172-180, 1999.

MATTOS, W. R. S., Sistemas de alimentação de vacas em produção. In: PEIXOTO, A. M., MOURA, J.C., FARIA, V. P. (Ed.), **Nutrição de Bovinos: conceitos básicos e aplicados**. Piracicaba: FEALQ, 1995. cap.6 p.119-142.

MARTINS, P.R.G.; BALBINOTTI, M.; FISCHER, V. Avaliação da produção e qualidade do leite conforme o sistema de produção nos meses de setembro a dezembro de 2001 no sudeste do RS. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., Recife, 2002. **Anais...** 1 CDROM.

MARTINS, P.C.; YAMAGUCHI, L.C.; ARCURI, P.B.; ARCURI, E.F. Pagamento por qualidade no Brasil: motivações e obstáculos. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/>>. Acesso em: 27 nov. 2007.

MARQUES, L.T.; BALBINOTTI, M.; FISCHER, V. Variação da composição química e da contagem de células somáticas de acordo com estratos de produção e meses do ano em Santa Vitória do Palmar-RS. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., RECIFE, 2002. **Anais...** 1 CDROM.

MAZAL, G.; VIANNA, P.C.B., SANTOS, M. V.; GIGANTE, M. L., Effect of somatic cell count on prato cheese composition. **Journal of Dairy Science**, Savoy, n.90, p.630-636, 2007.

MEDEIROS, S.R.; GAMA, M.A.S.; LANNA, D.P. Influência da nutrição animal na qualidade do leite e de produtos lácteos. In: VILELA, D., MARTINS, C. E., BRESSAN, M., CARVALHO, L. A. (Ed.), **Sustentabilidade da pecuária de leite no Brasil: qualidade e segurança alimentar**. Juiz de Fora, 2001. p.17-36.

MELLENDEZ, P.; DONOVAN, A.; HERNANDEEZ, J. Milk urea nitrogen and infertility in Florida Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.83, n.3, p.459-463, 2000.

MERCIER, J. C.; GROSCLAUDE, F.; RIBADEAU-DUMAS, B. Primary structure of bovine  $\alpha_{s1}$ -casein. **European Journal of Biochemistry**, Paris, v.23, p.41-51, 1971.

MOLINA, L. H.; KRAMM, J.; BRITO, C.; CARRILLO, B.; PINTO, M.; FERRANDO, A. Protein composition of milk from Holstein-Friesian dairy cows and its relationship with the genetics variants A and B of kappa-casein and beta-lactoglobulin (Part I). **International Journal of Dairy Technology**, Londres, v.59, n.3, p.183-187, 2006.

MÜHLBACH, P.R.F. Aspectos nutricionais que interferem na qualidade do leite. In: PRATES, E.S., et al. (Orgs) **Novos desafios para a produção leiteira no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2000. p.73-102.



MÜLLER, E.E. Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite. In: II sul-leite: Simpósio sobre sustentabilidade da pecuária leiteira na região sul do Brasil, 2002, Toledo. **Anais...** Toledo, 2002, p. 206-217.

MÜLLER, P. B. Bioclimatologia aplicada aos animais domésticos. Porto Alegre: Sulina, 1989. 262p.

MUNRO, G.L.; GRIEVE, P.A.; KITCHEN, B.J., Effects of mastitis on milk yield, milk composition, processing properties and yield and quality of milk products. **Australian Journal of Dairy Technology**, Sidney, 39:7-16, 1984.

NERO, L.A.; MATTOS, M.R.; BELOTI, V.; BARROS, M.A.F.; PINTO, P.A.N.; ANDRADE, N.J.; SILVA, W.P.; FRANCO, B.D.G.M. Leite cru de quatro regiões leiteiras brasileiras: perspectivas de atendimento dos requisitos microbiológicos estabelecidos pela Instrução Normativa 51. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.1, p. 191-195, jan./mar. 2005.

NG-KWAI-HANG, F.K.; HAYES, J.F.; MOXLEY, J.E.; MONARDES, H.G. Percentages of protein and nonprotein nitrogen with varying fat and somatic cells in bovine milk. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.68, p.1257-1262, 1985.

NG-KWAI-HANG, F.K.; HAYES, J.F.; MOXLEY, J.E.; MONARDES, H.G. Environmental influences on protein content and composition of bovine milk. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.65, n.10, p.1993-8, 1993.

NG-KWAI-HANG, F. K. A review of the relationship between milk protein polymorphism and milk composition/milk production. Milk Protein Polymorphism II. Palmerston North, New Zealand: **International Dairy Federation**, 1997. p.22-37.

NG-KWAI-HANG, F. K. Genetic polymorphism of milk proteins: Relationship with production traits, milk composition and technological properties. **Canadian Journal of Animal Science**, Quebec, v.78, p.131-147, 1998.

NOGUEIRA, M.P.; LOPES, F.F.; CAMPOS, E.M. Projeto PENSA: Mapeamento e quantificação da cadeia do leite –. In: NEVES, M.F.; CONSOLI, M.A. (Coord.) **Workshop do sistema agroindustrial do leite**. Ribeirão Preto, SP, 2006. (Relatório final)

NORO, G. Fatores ambientais que afetam a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.35, n.3, p.1129-1135, 2006.

- NORO, G.; GONZÁLEZ, F.H.D.; CAMPOS, R.; DÜRR, J.W. Fatores ambientais que afetam a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.35, n.3, p.1129-1135, 2006.
- O'BRIEN, B.; DILLON, P.; MURPHY, J. J.; MEHRA, R.J. Effects of stocking density and concentrate supplementation of grazing dairy cows on milk reduction, composition and processing characteristics. **Journal of Dairy Research**, London, v. 66, n. 2, p. 165 –176, 1999.
- OLEGGINI, G.H.; ELY, L.O.; SMITH, J.W. Effect of region and herd size on dairy performance parameters. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 84, p. 1044-1050, 2001.
- OLIVEIRA, C.A.F.; FONSECA, F.L.; GERMANO, P.M.L. Aspectos relacionados à produção, que influenciam a qualidade do leite. **Higiene Alimentar**, Juiz de Fora, v.13, n.62, p.10-13, 1999.
- ONER, Y.; ELMACI, C. Milk protein polymorphism in Holstein cattle. **International Journal of Dairy Technology**, London, v.59, n.3, p.180-182, 2006.
- OSTRENSKY, A.; RIBAS, N.P.; MONARDES, H.G. Fatores de ambiente sobre o escore de células somáticas no leite de vacas da raça Holandesa do Paraná. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37. Viçosa, 2000. **Anais**. Disponível em: <<http://www.sbz.org.br>> . Acesso em: 26 jan. 2008.
- PAAPE, M. J.; BANNERMAN, D. D.; ZHAO, X. The bovine neutrophil: structure and function in blood and milk. **Veterinary Research**, London, v.34, p.597-627, 2003.
- PAQUIN, P.; LACROIX, C. Seasonal and regional variations of different milk protein fractions: a survey of Quebec milk. In: PROTEIN DEFINITION. **International Dairy Federation**, Bruxelas, n. 9403, 87p, 1994.
- PAULA, M.C.; RIBAS, N.P.; ANDRADE, U.V.C. Somatic cell logarithmic transformations in bulk tank milk samples. In: WORLD CONFERENCE ON ANIMAL PRODUCTION, 9., Porto Alegre, 2003. **Anais...** 1 CDROM.
- PEREIRA, A.R.; SILVA, L.F.P; MOLON, L.K.; MACHADO, P.F.; BARANCELLI, G. Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite I- gordura e proteína. **Revista Brasileira de Pesquisa Veterinária e Ciência Animal**, Belo Horizonte, v.36, n.3, 1999. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo>> . Acesso em: 15 jan. 2008.

PHILPOT, W. N.; NICKERSON, S. C. Mastitis: counter attack. Naperville: Babson Bros. 150p. 1991.

PONCE, P. C.; CAPDEVILA, J.; FONSECA, L. F. Characterization of the abnormal milk syndrome: an approach of its probable causes and its corrections. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.82,p.195-200, Suplemento 1. 1999.

PORTUGAL, J. A. B.; PIRES, M. F. A.; DURÃES, M. C. Efeito da temperatura ambiente e da umidade relativa do ar sobre a freqüência de ingestão de alimentos e de água e de ruminção de vacas da raça Holandesa. **Arquitos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.52, n.2, p.154-159, 2000.

RIBAS, N.P. Estudo da produção de leite e gordura em rebanhos holandeses da bacia leiteira de Castrolanda, estado do Paraná. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.12, n.4, p.720-740, 1983.

RIBAS, N.P.; ALMEIDA, R.; MARCONDES, E.A. Estudo de alguns fatores de meio sobre as produções de leite, gordura e proteína em vacas Jersey no estado do Paraná. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999. Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1999. p.159.

RIBAS, N.P.; HARTMANN, W.; MONARDES, H.G.; ANDRADE, U.V.C. Sólidos totais do leite em amostras de tanque nos Estados do Paraná, Santa Catarina e São Paulo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.33, n.6, p.2343-2350, 2004 (Supl.3).

REGESTER, G. O.; SMITHERS, G. W. Seasonal changes in the b-lactoglobulin, a-lactalbumin, glycomacropetide, and casein content of whey protein concentrate. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.74, p.796-802, 1991.

RENEAU, J. K. Effective use of dairy herd improvement somatic cell counts in mastitis control. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.69, p.1708-1720, 1986.

SANG, B. C.; AHN, B. S.; SANG, B. S.; CHO, Y.Y.; DJAJANEGARA, A. Association of genetic variants of milk proteins with lactation traits in Holstein cows. In: AAAP ANIMAL SCIENCE CONGRESS, 7., 1994. Taiwan. **Proceedings...** Taiwan. 1994. p.211-217.

SANTOS, F. A. P.; HUBER, J. T.; THEURER, C. B. Milk yield and composition of lactating cows fed steam-flaked sorghum and graded concentrations of ruminally degradable protein. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.81, n.1, p.215-220, 1998.

SANTOS, M.V.; MA, Y.; BARBANO, D.M. Effect of somatic cell count on proteolysis and lipolysis in pasteurized fluid milk during shelf-life storage. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 86, p.2491–2503, 2003.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. **Estratégias para o controle da mastite e melhoria da qualidade do leite**. Barueri: Manole, 2006. 314p.

SAPRU, A.; BARBANO, D.; YUN, J.; KLEI, L.; OLTERNACU, P.; BANDLER, D. Cheddar cheese: influence of milking frequency and stage of lactation on composition and yield. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 80, p. 437-446, 1997.

SAS Institute Inc. **SAS User's guide: statistics**. Ver. 5<sup>th</sup> ed., SAS Inst., Cary, NC, 1985.

SARGEANT, J. M.; SHOUKRI, M. M.; MARTIN, S. W.; LESLIE, K. E.; LISSEMORE, K. D. Investigating potential risk factors for seasonal variation: an example using graphical and spectral analysis methods based on the production of milk components in dairy cattle. **Preventive Veterinary Medicine**, New York, v.36, n.3, p.167-178, 1998.

SCHÄELLIBAUM, M. Efeitos de altas contagens de células somáticas sobre a produção e qualidade de queijos. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 2, 2000, Curitiba. **Anais...** Curitiba: CIETEP/FIEP, 2000. p.21-26.

SILVA, I. T.; DEL LAMA, M. A. Milk protein polymorphism in Brazilian zebu cattle. **Brazilian Journal of Genetics**, Ribeirão Preto, v.20, n.4, p.625-630, 1997.

SORDILLO, L. M.; NICKERSON, S. C.; AKERS, R. M. Secretion composition during bovine mammary involution and the relationship with mastitis. **International Journal of Biochemistry**, London, v.19, n.12, p.1165-1172, 1987.

SWAISGOOD, H.E. Review and update of casein chemistry. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.76, p.3054-61, 1993.

SØRENSEN, L.K.L.M.J.B. Accuracy of Fourier transform infrared spectrometry in determination of casein in dairy cows' milk. **Journal of Dairy Research**, London, v.70, p.445-452, 2003.

TEIXEIRA, N.M.; FREITAS, A.F.; BARRA, R.B. Influência de fatores de meio ambiente na variação mensal da composição e contagem de células somáticas do leite em rebanhos no estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 55, n. 4, p.234-245, 2003.

THEURER, C. B.; HUBER, J. T.; DELGADO-ELORDUY, A. Invited review: Summary of steam- flaking corn or sorghum grain for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.82, n.9, p.1950-1959. 1999.

URECH, E.; PUHAN, Z.; SCHÄLLIBAUM, M. Changes in milk protein fraction as affected by subclinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, Savoy, n.82, p. 2402-2411, 1999.

VERDI, R.J.; BARBANO, D.M.; DELLAVILLE, M.E.; SENYK, G.F. Variability in true protein, casein, nonprotein nitrogen, and proteolysis in high and low somatic cell milks. **Journal of Dairy Research**, London, v. 70, p. 230 – 242, 1987.

VERDI, R.J.; BARBANO, D.M., Preliminary investigation of the properties of somatic cell proteases. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 71, p.534-538, 1988.

VERDI, R.J.; BARBANO, D.M. Properties of Proteases from Milk Somatic Cells and Blood Leukocytes. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 74, p.2077-2081, 1991.

WALKER, G. P.; DUSHEA, F. R.; DOYLE, P. T. Effects of nutrition and management on the production and composition of milk fat and protein: a review. **Australian Journal of Agricultural Research**, Sidney v.55, n.10, p. 1009-1028, 2004.

WILLIAMS, R.E.; JACHNIK, P. Fat: solids-not-fat price ratio: international comparisons. **Bulletin of the International Dairy Federation**, Bruxelles, n. 266, p. 36-42, 1991.

WALSTRA, P.; JENNESS, R. **Dairy Chemistry and physics**, Wiley, New York, 1984. 380p.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)