

**BRUNO GARCIA BOTARO**

**Variantes genéticas de beta-lactoglobulina em vacas leiteiras e  
características físico-químicas e de composição do leite**

Pirassununga

2007

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

**BRUNO GARCIA BOTARO**

**Variantes genéticas de beta-lactoglobulina em vacas leiteiras e  
características físico-químicas e de composição do leite**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

**Departamento:**

Nutrição e Produção Animal

**Área de concentração:**

Nutrição Animal

**Orientador:**

Prof. Dr. Marcos Veiga dos Santos

Pirassununga

2007

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

contido  
maio Claudio Pestana  
05/05/2007  
Maria Claudia Pestana  
Supervisora Técnica  
Biblioteca Virgínie Buff D'Ápice  
FMVZ-USP  
CRB 816233 - NF 2470405

## DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1820  
FMVZ

Botaro, Bruno Garcia

Variantes genéticas de beta-lactoglobulina em vacas leiteiras e características físico-químicas e de composição do leite / Bruno Garcia Botaro. – Pirassununga: B. G. Botaro, 2007.

74 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, 2007.

Programa de Pós-graduação: Nutrição e Produção Animal.

Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Veiga dos Santos.

1. Vaca-leiteira. 2. Composição do leite. 3. Estabilidade do leite. Proteína. 4. -lactoglobulina. I. Título.

## PARECER DA COMISSÃO DE BIOÉTICA




UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"  
*Comissão Bioética*

### CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Correlação entre variantes genéticas de beta-lactoglobulina e kappa-caseína em rebanhos leiteiros comerciais e a ocorrência de alterações das características físico-químicas e de composição do leite", Protocolo nº470/2004, não utilizando animais, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Marcos Veiga dos Santos, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado "ad referendum".

(We certify that the Research "Correlation between genetic variants of beta-lactoglobulin and kappa-casein in dairy herds and the occurrence of alterations in physical-chemical composition of milk" protocol number 470/2004, under the responsibility of Prof. Dr. Marcos Veiga dos Santos, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved "ad referendum", meeting.

São Paulo, 13 de maio de 2004

  
Prof.ª Dr.ª Júlia Maria Matera  
Presidente da Comissão de Bioética  
FMVZ/USP

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: Botaro, Bruno Garcia

Título: Variantes genéticas de beta-lactoglobulina em vacas leiteiras e características físico-químicas e de composição do leite

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

### Banca Examinadora

Prof. Dr.: \_\_\_\_\_ Instituição \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr.: \_\_\_\_\_ Instituição \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr.: \_\_\_\_\_ Instituição \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

“Dedico aos meus pais, Carmen e Carlos, e meu irmão Guilherme, que com amor incondicional, me conduzem por todos os caminhos que em minha vida empreito”

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as oportunidades e desafios, pelos momentos de felicidade e de angústia. Nada foi ao acaso. Obrigado, Senhor!

Ao mestre e amigo, Prof. Dr. Marcos Veiga dos Santos, sempre confiante e incentivador de seus pupilos, com quem pude empreender meus projetos acadêmicos e partilhar da amizade. Obrigado, James!

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, que me regalou a impagável oportunidade de chegar até aqui.

Aos meus entes tão queridos, em especial, minha linda “vó” Zica, e à Mariana Perotti Rodrigues, agradeço pelo apreço, amor sincero e incentivo.

Aos meus amigos de todos os momentos, que apaziguaram minhas ansiedades e compreenderam minha ausência.

Aos dedicados amigos do laboratório, Zéca, Lú, Adriana, Ygor, Raquel, Camilla e todos que por lá passaram, auxiliaram e conosco conviveram. Muito obrigado.

A todos os pós-graduandos, pelos momentos de diversão, seriedade e companheirismo.

A todos os professores e funcionários da FMVZ/USP, em especial, aos do departamento de Nutrição e Produção Animal.

A todos do Campus Administrativo de Pirassununga, por todo o auxílio, prontidão e dedicação.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo auxílio financeiro para a realização desta pesquisa.

A CAPES, por prover o auxílio financeiro que permitiu empenhar-me em meus projetos.



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

## RESUMO

BOTARO, B. G. **Variantes genéticas de beta-lactoglobulina em vacas leiteiras e características físico-químicas e de composição do leite.** [Beta-lactoglobulin polymorphism in dairy cows and milk composition and physico-chemical characteristics]. 2007. 74 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2007

O presente estudo teve como objetivo avaliar a associação entre o polimorfismo da  $\beta$ -lactoglobulina e as características físico-químicas (pH, acidez e crioscopia), de composição (gordura, sólidos totais, uréia, proteína bruta, proteína verdadeira, nitrogênio não-protéico e caseína), e de estabilidade do leite. Para tanto, 11 rebanhos leiteiros foram selecionados, 5 da raça Holandesa e 6 da raça Girolanda, dos quais foram coletadas 4 amostras de leite de 164 vacas da raça Holandesa e 74 da raça Girolanda, sendo duas coletas realizadas na estação das secas e 2 na estação das chuvas. Cada amostra foi submetida à análise de composição e de características físico-químicas. Para a identificação do genótipo para  $\beta$ -lactoglobulina, foram coletadas amostras de sangue de cada vaca, as quais foram submetidas à reação de polimerase em cadeia (PCR), determinando-se as frequências alélicas e genótípicas dos animais. A estabilidade do leite foi avaliada pelo teste de estabilidade ao etanol, nas seguintes concentrações alcoólicas: 70, 76, 80 e 84°GL. As frequências genótípicas foram 0,28, 0,30 e 0,41 para os genótipos AA, AB e BB, respectivamente. A frequência do alelo B foi maior que do alelo A, 0,52 e 0,47, para a raça Holandesa, e 0,58 e 0,41, para a raça Girolanda, respectivamente. Não houve efeito do polimorfismo da  $\beta$ -lactoglobulina (AA, AB e BB), entre os animais das raças, avaliadas sobre as propriedades físico-químicas e a composição do leite. Observou-se efeito de raça (Holandesa e Girolanda, respectivamente) sobre a acidez titulável (16,16 e 17,07°D) e pH (6,78 e 6,75), e de composição do leite quanto as variáveis gordura (3,31 e 3,20%), NUL (16,62 e 14,45mg/dL) e PB (3,13 e 3,04%). Houve efeito da estação (chuvosa e seca, respectivamente) sobre as características físico-químicas de acidez titulável (16,62 e 16,34°D), pH (6,76 e 6,79) e crioscopia (-0,5411 e -0,5376°H), e de composição do leite quanto as variáveis lactose (4,34 e 4,50%), sólidos totais (11,65 e 11,90%), LogCCS (2,44 e 2,34), PB (3,08 e 3,14%), PV (2,84 e 2,91%), caseína (2,01 e 2,13%) e relação caseína:proteína verdadeira (0,70 e 0,72). Verificou-se também efeito da raça e estação do ano sobre a estabilidade do leite, sendo que o leite foi mais instável para raça Girolanda e durante a estação seca, mas não se observou efeito do polimorfismo da  $\beta$ -lactoglobulina sobre esta característica.

Palavras-chave: Vaca-leiteira, Composição do leite, Estabilidade do leite, Proteína,  $\beta$ -lactoglobulina

## ABSTRACT

BOTARO, B. G. Beta-lactoglobulin polymorphism in dairy cows and milk composition and physico-chemical characteristics. [Variantes genéticas de beta-lactoglobulina em vacas leiteiras e características físico-químicas e de composição do leite]. 2007. 74 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

The objective of this study was to evaluate the association between beta-lactoglobulin polymorphism and physico-chemical characteristics, composition (fat, total solids, urea, crude protein, true protein, non protein nitrogen and casein), and stability of milk. For this aim, 11 dairy herds were selected, six of them composed of crossbred Holstein-Zebu (H-Z) cows and five from Holstein cows. Milk samples were taken four times (twice in dry season and twice in rainy season), from 164 Holstein and 74 crossbred Holstein-Zebu cows. Individual milk samples were analyzed for milk composition and physico-chemical properties. For  $\beta$ -lactoglobulin polymorphism analysis, blood samples were collected from each cow and then submitted to polymerase chain reaction (PCR) for genotype and allele frequencies determination. Heat stability of milk was determined by the alcohol-induced precipitation test, using the following ethanol concentrations 70, 76, 80 and 84°GL. The genotype frequencies were 0.28, 0.30 and 0.41 for AA, AB and BB, respectively. Allele B frequency was higher than A, 0.52 and 0.47, for Holstein cows, 0.58 and 0.41, for Holstein-Zebu, respectively. Genetic variants of  $\beta$ -lactoglobulin (AA, AB and BB) had no effect on physico-chemical and compositional characteristics, either among milk from Holstein cows, or from crossbred Holstein-Zebu. Breed effect was observed (Holstein and H-Z, respectively) on titrable acidity (16,16 and 17,07°D), pH (6,78 and 6,75), fat (3,31 and 3,20%), milk urea nitrogen (16,62 and 14,45mg/dL) and crude protein (3,13 and 3,04%) was observed. Effect of seasonality (rainy and dry season, respectively) was also observed on titrable acidity (16,62 and 16,34°D), pH (6,76 and 6,79) and freezing point (-0,5411 and -0,5376°H), lactose (4,34 and 4,50%), total solids (11,65 and 11,90%), LogCCS (2,44 and 2,34), crude protein (3,08 and 3,14%), true protein (2,84 and 2,91%), casein content (2,01 and 2,13%) and casein:true protein ratio (0,70 and 0,72). Effect of breed and seasonality on milk ethanol stability test was observed. The milk from Holstein-Zebu and from dry season was less stable than milk from Holstein cows and from rainy season. No effect of  $\beta$ -lactoglobulin polymorphism was observed on milk stability.

Key words: Dairy cow. Milk composition. Milk stability. Protein.  $\beta$ -lactoglobulin.

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>B – LG</b>	<b>B - lactoglobulina</b>
<b>CCS</b>	<b>contagem de células somáticas</b>
<b>DNA</b>	<b>ácido desoxirribonucléico</b>
<b>EPM</b>	<b>erro padrão da média</b>
<b>°H</b>	<b>graus hortvet</b>
<b>LOGCCS</b>	<b>logarítimo da contagem de células somáticas</b>
<b>NNC</b>	<b>nitrogênio não-caseinoso</b>
<b>NNP</b>	<b>nitrogênio não-protéico</b>
<b>NT</b>	<b>nitrogênio total</b>
<b>NUL</b>	<b>nitrogênio uréico do leite</b>
<b>°D</b>	<b>graus dornic</b>
<b>°GL</b>	<b>graus gay lussac</b>
<b>PB</b>	<b>proteína bruta</b>
<b>PCR</b>	<b>reação em cadeia de polimerase</b>
<b>PH</b>	<b>potencial de hidrogênio</b>
<b>PT</b>	<b>proteína total</b>
<b>PV</b>	<b>proteína verdadeira</b>
<b>RFLP</b>	<b>“restriction fragment length polymorphism”</b>

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	14
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	16
2.1 Efeitos da nutrição sobre a composição do leite.....	16
2.2 Efeitos da sazonalidade sobre a composição protéica do leite .....	18
2.3 Fatores genéticos que influenciam a composição do leite.....	20
2.4 Beta-lactoglobulina.....	21
2.5 Efeitos do polimorfismo da $\beta$ -lactoglobulina sobre as características físico-químicas e de composição do leite.....	23
2.6 Estabilidade térmica do leite.....	26
2.7 Efeitos do polimorfismo da $\beta$ -lactoglobulina sobre a estabilidade térmica do leite...28	
2.8 Estabilidade ao álcool .....	30
3 OBJETIVOS .....	32
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	33
4.1 Seleção dos rebanhos para coleta.....	33
4.2 Seleção das vacas.....	33
4.3 Coleta de amostras de leite e sangue das vacas .....	34
4.4 Delineamento experimental e análise estatística.....	35
4.5 Metodologias para análises .....	36
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	40
5.1 Distribuição da freqüência genotípica e alélica do gene da $\beta$ -lactoglobulina.....	40
5.2 Efeito do polimorfismo da $\beta$ -lactoglobulina sobre as características físico-químicas e de composição do leite.....	42

5.3 Efeito da sazonalidade e raça sobre as características físico-químicas e de composição do leite .....	45
5.4 Efeito do polimorfismo da $\beta$ -lactoglobulina, raça e sazonalidade sobre a estabilidade do leite.....	49
6 CONCLUSÃO .....	55
REFERÊNCIA.....	56
APÊNDICES .....	66

## 1 INTRODUÇÃO

O leite é composto por água, suspensão coloidal de proteínas ligadas ao Ca e P, emulsão de glóbulos de gordura, solução de lactose, sais minerais e vitaminas. É um alimento altamente perecível, cujas características físicas, químicas e microbiológicas originais são passíveis de alterações desde a fase de produção primária até o processamento industrial. Por isso, o estudo dos fatores que alteram a composição e as características físico-químicas do leite tem grande relevância para a indústria de laticínios e para os produtores, pois esta é a matéria-prima essencial para a fabricação de vários derivados lácteos.

A identificação de genes polimórficos que codificam as principais proteínas do leite, dentre elas as caseínas ( $\alpha 1$ - e  $\alpha 2$ -,  $\beta$  e kappa), a  $\beta$ -lactoglobulina e  $\alpha$ -lactalbumina, pode permitir uma melhor compreensão do comportamento do leite durante o processamento pela indústria. As variantes genéticas das principais proteínas, em particular as frações  $\kappa$ -caseína e  $\beta$ -lactoglobulina, influenciam em maior ou menor grau a composição e/ou o comportamento tecnológico do leite (PATERSON et al., 1999).

Devido ao padrão autossômico de transmissão destes genes, a seleção de vacas de genótipo específico é praticável para a obtenção de uma variante desejável (DEBELJAK et al., 2000), portanto, existe grande interesse no uso dos genes que codificam estas proteínas do leite como marcadores para a produção com vistas à alteração da composição e melhoramento de suas propriedades físico-químicas, vislumbrando a produção de derivados lácteos específicos.

Entretanto, os resultados do grande número de estudos realizados acerca das relações existentes entre produção de leite e as variantes genéticas para  $\beta$ -lactoglobulina ainda são inconsistentes por diversas razões que incluem o tamanho reduzido das populações sob estudo, raças dos animais, pequenas frequências de algumas variantes genéticas, e o mais



importante, o rigor da análise estatística para o ajuste dos fatores que contribuem para a produção de leite (NG-KWAI-HANG, 1997).

Muitos estudos demonstraram que o leite de animais da variante A da  $\beta$ -lactoglobulina contém maiores concentrações de proteína total e  $\beta$ -lactoglobulina, porém menores de caseína e gordura. De acordo com Ng-Kwai-Hang (1998), a estabilidade das micelas de caseína e a estabilidade térmica da  $\beta$ -lactoglobulina são influenciadas pelo polimorfismo genético dessas proteínas. O genótipo B para  $\kappa$ -caseína e  $\beta$ -lactoglobulina está associado com melhores propriedades de coagulação, como firmeza e tempo de formação do coágulo. Na fabricação de queijos, é preferível a utilização de leite proveniente de animais com genótipo B para  $\kappa$ -caseína e  $\beta$ -lactoglobulina, já que a produção de queijos será favorecida em termos de qualidade quando comparada ao leite proveniente de animais com a variante A (NG-KWAI-HANG et al., 2002).

Portanto, como os vários fenótipos de  $\beta$ -lactoglobulina estão associados com diferenças na composição do leite, o conhecimento das frequências destes fenótipos torna-se especialmente importante (HILL et al., 1996). Além disso, a habilidade do leite bovino em resistir a temperaturas relativamente altas durante seu processamento industrial é uma característica fortemente associada a uma série de fatores de composição do leite, e o efeito das variantes genéticas da  $\beta$ -lactoglobulina sobre tal habilidade ainda não apresenta resultados conclusivos (HILL et al., 1997), o que justifica a investigação do polimorfismo genético desta proteína e seus possíveis efeitos sobre a estabilidade térmica do leite.

Dessa forma, a hipótese do presente estudo é a de que a ocorrência de polimorfismo da  $\beta$ -lactoglobulina esteja associada com alterações na composição e na estabilidade do leite de vacas Holandesa e Girolanda, e que essas alterações tenham comportamentos diferentes entre as estações chuvosa e seca.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Efeitos da nutrição sobre a composição do leite

As características de composição do leite são de importância considerável para o produtor, para a indústria e o consumidor. De forma geral, existem três alternativas principais para alterar a composição do leite: por meio da nutrição e manejo da vaca, explorando as variações de raças e melhoramento genético, e pela aplicação de processos industriais de adição ou remoção de componentes (WALKER et al., 2004). As alterações no manejo alimentar e o balanceamento de dietas são responsáveis principalmente por mudanças nas concentrações de gordura e proteína do leite, e que possibilitam o mais rápido efeito sobre estes componentes ainda na propriedade leiteira, considerando animais de uma mesma raça e potencial produtivo. Além disso, o consumo de matéria seca, qualidade e digestibilidade da fibra e a relação energia/proteína da dieta são os principais fatores nutricionais que afetam a composição do leite (SANTOS e FONSECA, 2006).

Como nas regiões tropicais é muito comum o uso de pastagens na alimentação de ruminantes, a baixa densidade de nutrientes e a reduzida digestibilidade da fibra limitam consideravelmente o consumo de matéria seca durante a época menos chuvosa (SANTOS e FONSECA, 2006), levando a um balanço energético negativo, queda de produção e incremento no conteúdo de gordura. Por outro lado, estas alterações na fração dos carboidratos estruturais da dieta reduzem a concentração de proteína no leite (PONCE et al., 1999). Já a ingestão de dietas com alto teor de concentrados, ou com fontes de carboidratos mais fermentáveis no rúmen favorecem a produção de proteína no leite (THEURER et al., 1999).

Além disso, fatores dietéticos como nível e tipo da fonte de nitrogênio contribuem para a variação na proporção de caseína como parte da proteína verdadeira do leite de bovino (COULON et al., 1998). Em uma série de experimentos realizados na França, Coulon et al. (2001) observaram que a suplementação de proteínas com melhor balanço de aminoácidos aumentaram significativamente a relação caseína:proteína total no leite de vacas das raças Holandesa, Montbéliarde e Tarentaise.

O sistema de manejo extensivo está associado à menor produção de leite e, assim como baixas concentrações de gordura e proteína, desencadeadas pela menor disponibilidade de matéria-seca ao animal, em situações sazonais nas quais o pasto não possui características adequadas (BARGO et al., 2002). O'Brien et al., (1999) investigaram os efeitos das condições e taxa de lotação do pasto durante o ano sobre a composição do leite, bem como suas características de processamento, e concluíram que, tais variáveis são evidentemente afetadas. Os autores verificaram que a adoção de suplementação com concentrado em animais sob pastejo aumenta os teores de caseína e proteínas do soro na proteína total, mas não altera de forma significativa as características de processamento, exceto a prova de estabilidade ao álcool. De acordo com Depeters e Cant (1992), o leite de vacas submetidas ao sistema de pastagem *ad libitum* tem um acréscimo de conteúdo protéico e de produção quando comparado ao de animais submetidos à ingestão restrita.

Naturalmente que além das condições, o tipo de pastagem fornecido aos animais influencia não somente os teores, mas a composição dos componentes do leite. Bugaud et al., (2001a) estudaram o perfil de ácidos graxos do leite de vacas alimentadas em pastos de leguminosas e verificaram que o leite produzido continha uma maior quantidade de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa quando comparado ao leite de vacas submetidas exclusivamente ao regime de pastagem em gramíneas.

Em relação às frações nitrogenadas do leite, Bugaud et al., (2001b), trabalhando com diferentes tipos de pastagem e dois grupos de vacas com diferentes potenciais genéticos para teor de proteína no leite, verificaram que ambos os grupos apresentaram aumento na produção de leite e de proteína, mas apresentaram diferenças significativas de apenas 0,5% na relação caseína:proteína total. De acordo com Banks (2000), o conteúdo protéico apresenta aumento com a alteração da relação forragem:concentrado, mas o teor de caseína é uma característica de difícil manipulação por meio da dieta.

Ainda em relação às frações nitrogenadas do leite, as modificações na composição podem ocorrer em função do teor protéico e de uréia fornecidos na dieta, cuja utilização é alternativa para diminuição de custos de produção na propriedade leiteira (AQUINO, 2005). Santos et al., (1998) relataram que a substituição, parcial ou total da proteína verdadeira da ração por uréia, em um total de 23 comparações, não afetou a produção de leite em 20 destas e aumentou o teor de proteína em cinco, sem alterações nas concentrações de nitrogênio uréico do leite.

A concentração de nitrogênio uréico no leite demonstra principalmente a adequação da relação entre o nitrogênio e a energia da dieta (BRODERICK e CLAYTON, 1997).

Entretanto, as alterações na concentração de uréia do leite podem advir de fatores como: produção leiteira, idade da vaca, estágio de lactação (CARLSSON et al., 1995), peso vivo (JONKER et al., 1998) e sistema de pastejo (GIELEN et al., 1989). As percentagens de proteína (JONKER et al., 1999) e gordura do leite (JONKER et al., 1998) também têm sido associadas à concentração de NUL.

## **2.2 Efeitos da sazonalidade sobre a composição protéica do leite.**

A variação sazonal da temperatura, luminosidade e precipitação pluviométrica, exerce importante efeito, direta ou indiretamente, sobre a produção de leite, gordura e proteínas, as quais têm sido descritas em diversos países.

Sargeant et al., (1998) observaram efeitos da sazonalidade sobre a produção de leite e de seus componentes e sendo que as porcentagens de proteína total e gordura foram influenciadas pela sazonalidade, com menores porcentagens durante os meses de verão e maiores durante os de inverno.

Banks (2000) aponta que a gordura e a caseína apresentam tendências sazonais distintas de variação, fato este que leva, por exemplo, à diferenças substanciais na produção de queijo durante o ano. Tais tendências são resultados de fatores fisiológicos da própria lactação, disponibilidade e tipo de alimento, fatores ambientais e todos têm implicações sobre o conteúdo de gordura e as relações proporcionais de caseína sobre o nitrogênio total.

Depeters e Cant (1992) e Depeters e Ferguson (1992), verificaram que altas temperaturas ambientais reduzem o conteúdo de proteína total e promovem diminuição de consistência de coágulo do leite proveniente de rebanhos submetidos a tal condição. Os autores citam ainda que a quantidade de proteína bruta do leite, proveniente de quatro raças leiteiras diferentes, foi menor no verão e maior no inverno.

Allore et al., (1997) evidenciaram diferenças na composição e qualidade do leite de rebanhos norte-americanos durante as estações do ano na região nordeste dos E.U.A., ressaltando que a área geográfica também produziu efeitos sobre a produção, composição e qualidade do leite.

Auldist e Hubble (1998), buscando avaliar os efeitos ocasionados pela estação do ano e o estágio da lactação dos animais na composição do leite de rebanhos da Nova Zelândia, verificaram que a época do ano foi o principal efeito sobre os componentes do leite de

interesse industrial (proporções de caseína:proteínas do soro, nitrogênio caseinoso:nitrogênio total e proteína:gordura).

Lacroix et al., (1996), objetivando determinar as variações regionais e sazonais sobre as frações de nitrogênio e seus efeitos na relação caseína:proteína total e proteína verdadeira em leite destinado a produção de queijo no Canadá, encontraram diferenças pequenas, porém significativas entre as regiões consideradas e estações do ano. De acordo com os autores, os efeitos sazonais foram as maiores fontes de variação (10 vezes maior que os efeitos regionais observados). Paquin e Lacroix (1994), também avaliando os efeitos das variações regionais e sazonais sobre as diferentes frações de nitrogênio no leite, observaram que estas sofreram alterações, porém não apresentaram um padrão de variação definido.

Teixeira et al., (2003) estudaram os efeitos do mês do ano, estágio de lactação, idade da vaca ao parto, época de parto e grupo racial sobre a composição e a contagem de células somáticas do leite de vacas da raça Holandesa no Estado de Minas Gerais e constataram que a produção aumentou da primeira para as demais lactações, porém as porcentagens de proteína e gordura não variaram. Os efeitos do estágio de lactação e mês do ano sobre as porcentagens de gordura e proteína do leite foram significativos, sendo que flutuações sazonais das porcentagens de gordura e proteína seguiram tendências opostas à observada para produção de leite: maiores nos meses de inverno (época seca) e mais baixas nos meses de verão (época chuvosa). As porcentagens de gordura e proteína permaneceram relativamente constantes com o aumento da idade ao parto.

### 2.3 Fatores genéticos que influenciam a composição do leite

Aspectos associados à variação na composição do leite podem ser atribuídos às diferentes variações genéticas observadas entre as espécies, raças, e mesmo entre indivíduos de uma mesma espécie. Estudos no campo da biologia molecular têm permitido mapear e identificar os genes responsáveis por essa variação no leite. Até então, os casos mais intensamente investigados para compreender a variação de composição entre os leites se referem aos genes que codificam as proteínas do leite. Polimorfismos nestes genes causam diferenças na composição e no teor de proteína, ambos afetando a composição do leite e suas propriedades tecnológicas (Goddard, 2001).

Diversos relatos demonstram que as principais proteínas do leite -  $\alpha$ -s1,  $\alpha$ -s2 (MAHE et al., 1999),  $\beta$  e  $\kappa$  caseínas (ONER e ELMACI, 2006), a  $\beta$ -lactoglobulina (MOLINA et al., 2006) e  $\alpha$ -lactalbumina (BLECK e BREMEL, 1993) -, apresentam diferenças de composição de aminoácidos em função dos polimorfismos observados entre os genes que as codificam, mesmo entre indivíduos de uma mesma raça. Existem aproximadamente 40 diferentes variantes genéticas já identificadas para os *loci* gênicos que codificam as principais proteínas do leite, e diferenças consideráveis também foram observadas nas distribuições das frequências alélicas, mesmo entre indivíduos da mesma raça (DOVC, 2000).

No caso das raças bovinas européias *Bos taurus* e dos genes que codificam a proteína  $\beta$ -lactoglobulina, por exemplo, as variantes genéticas predominantes são a A e B, com a variante C sendo encontrada em baixas frequências na raça Jersey (HILL et al., 1997).

Dentre as raças zebuínas *Bos indicus* estudadas no Brasil por Silva e Del Lama (1997), observou-se a predominância das variantes genéticas A e B da beta-lactoglobulina de animais Gir, Guzerá e Nelore.

Esses genes e suas variantes têm sido associados 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, 1997). Por exemplo, em revisão acerca dos efeitos do polimorfismo das principais proteínas do leite sobre produção, composição e propriedades tecnológicas do leite, Ng-Kwai-Hang (1998) observou que muitos estudos demonstraram que o leite da variante A de  $\beta$ -lactoglobulina contém maiores concentrações de proteína bruta e de  $\beta$ -lactoglobulina, mas teores menores de caseína e gordura. As variantes C e B, da  $\alpha$ -s1 e  $\beta$  caseínas, respectivamente, de acordo com aquele autor, estão associadas com maiores porcentagens de gordura, proteína e caseína, quando

comparadas com a variante A. Ainda, para o locus gênico da  $\kappa$ -caseína, o leite da variante B foi associado à maiores concentrações de gordura, proteína e  $\kappa$ -caseína do que a variante A. Além disso, a estabilidade das micelas de caseína e desnaturação pelo calor da  $\beta$ -lactoglobulina, e as propriedades de coagulação e firmeza de coágulo, características importantes para a fabricação de queijos, são fatores fortemente influenciados pelo polimorfismo destas proteínas.

Entretanto, polimorfismos nos genes que codificam as proteínas do leite têm sido associados a outras variações na composição do leite que não são conseqüências diretas das diferenças estruturais e de concentração destas proteínas, mas ligadas aos mecanismos de regulação da síntese láctea (GODDARD, 2001), fatores que não serão discutidos no presente estudo.

Portanto, o mapeamento e identificação de genes responsáveis por estas variações têm permitido a compreensão das diferenças existentes entre as características e os componentes de maior importância econômica e de processamento industrial do leite (ROTHSCHILD; SOLLER, 1999).

Este campo de estudo permite, ainda, o desenvolvimento de estratégias para a seleção assistida de animais por marcadores, possibilitando o aumento da produção de leite e melhoria das características físico-químicas, com vistas à industrialização de lácteos (DAVIS, 2005), além de aumentar a rapidez e dinamismo no processo decisório quanto ao uso ou exclusão de um animal para reprodução (MEDRANO e AGUILARCORDOVA, 1990).

## **2.4 Beta-lactoglobulina**

De acordo com Fox e Mc Sweenwey (1998), cerca de 20% da proteína total do leite bovino pertence à um grupo de proteínas genericamente chamado de soro, proteínas do soro ou nitrogênio não-caseinoso. Quando o leite é submetido a  $\text{pH} = 4,6$  ou solução saturada de NaCl, estas proteínas permanecem em solução. Esta solução protéica, quando submetida à solução saturada de  $\text{MgSO}_4$  gera um precipitado referido como lactoglobulina e uma solução protéica, chamada lactalbumina.

A fração de lactoglobulina consiste principalmente de imunoglobulinas. A fração de lactalbumina do leite bovino contém a  $\beta$ -lactoglobulina, a  $\alpha$ -lactalbumina e a albumina sérica.

A  $\beta$ -lactoglobulina representa cerca de 50% da proteína do soro e 12% da proteína total no leite bovino (FOX e MC SWEENEY, 1998) e, desde sua cristalização por Palmer<sup>1</sup> (1934), foi usada como modelo protéico para compreensão dos mecanismos de desnaturação e ligação entre proteínas e íons (FORMAGGIONI et al., 1999). A  $\beta$ -lactoglobulina não está presente na secreção láctea de todos os mamíferos: no leite humano e de roedores, por exemplo, esta proteína não é encontrada. Além disso, sua função biológica ainda não é bem conhecida. Acredita-se que a  $\beta$ -lactoglobulina tenha um papel no metabolismo do fosfato na glândula mamária, e no transporte da vitamina A e outras moléculas hidrofóbicas como os ácidos graxos no trato gastrointestinal de neonatos (KONTOPIDIS et al., 2004). Sua síntese ocorre nas células epiteliais da glândula mamária sob regulação da prolactina (LARSON, 1979).

A  $\beta$ -lactoglobulina consiste de uma seqüência de 162 resíduos de aminoácidos (HAMBLING et al., 1992) com peso molecular de 18,4 kDa, sendo primeiramente seqüenciada por Braunitzer et al., (1972), e completamente genotipada por Alexander et al., (1993). A proteína se apresenta em dímeros, mas se dissocia em monômeros quando ocorre sua desnaturação (KONTOPIDIS et al., 2004). Os agentes desnaturantes da  $\beta$ -lactoglobulina podem ser álcalis, o calor, compostos orgânicos ou íons de metais pesados. Entretanto, ainda não é claro o mecanismo pelo qual esses agentes atuam sobre a proteína, produzindo agregados insolúveis. Além disso, a  $\beta$ -lactoglobulina apresenta reatividade com outros componentes do leite, como por exemplo, a  $\alpha$ -lactalbumina e a  $\kappa$ -caseína (JOST, 1993).

Aschaffenburg e Drewry (1955) demonstraram pela primeira vez, por meio de eletroforese em papel, em pH 8,6, a existência de duas formas distintas de  $\beta$ -lactoglobulina provenientes do leite de duas novilhas gêmeas. De acordo com Formaggioni et al., (1999), 12 variantes genéticas (de A a J, W e Dr) já foram identificadas em bovinos.

Entre as raças da espécie bovina de maior interesse na exploração leiteira, as variantes A, B e C são predominantemente investigadas e caracterizadas até então. As diferenças na seqüência dos 162 aminoácidos, nas posições 59, 64 e 118, que constituem as variantes A, B e C da  $\beta$ -lactoglobulina são ilustradas na figura 1.

---

<sup>1</sup> PALMER, A. H. The preparation of crystalline globulin from the albumin fraction of cow's milk. **Journal of Biological Chemistry**, v. 104, p. 359-372, 1934.



$\beta$ -	Posição dos aminoácidos variáveis														
Lg	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66...	116	117	118	119	120
<b>A</b>	Leu	Leu	<b>Gln</b>	Lis	Trp	Gln	Asn	<b>Asp</b>	Glu	Cis...	Ser	Leu	<b>Val</b>	Cis	Gln
<b>B</b>	Leu	Leu	<b>Gln</b>	Lis	Trp	Gln	Asn	<b>Gli</b>	Glu	Cis...	Ser	Leu	<b>Ala</b>	Cis	Gln
<b>C</b>	Leu	Leu	<b>His</b>	Lis	Trp	Gln	Asn	<b>Gli</b>	Glu	Cis...	Ser	Leu	<b>Ala</b>	Cis	Gln

Figura 1 - Comparação entre as seqüências de aminoácidos das variantes A, B e C da  $\beta$ -lactoglobulina, nas posições onde se verificam as diferenças

As diferenças entre os genótipos polimórficos de  $\beta$ -lactoglobulina se expressam em pequenas variações, quanto à estrutura primária das proteínas que codificam. Contudo, essas variações estruturais podem estar associadas a propriedades físico-químicas significativamente diferentes (HILL et al., 1996).

## 2.5 Efeitos do polimorfismo da $\beta$ -lactoglobulina sobre as características físico-químicas e de composição do leite

Poucos trabalhos demonstraram associação entre os componentes do leite de menor interesse econômico, como citrato, cálcio e fosfato (ALEANDRI et al., 1990; DEVOLD et al., 2000; CELIK, 2003), com as variantes genéticas da  $\beta$ -lactoglobulina. Em contrapartida, há um maior número de estudos que identificaram associação entre a composição do leite, principalmente a proteína e gordura, e as diferentes variantes genéticas para  $\beta$ -lactoglobulina (BOBE et al., 1999, 2004; CELIK, 2003; HILL et al., 1996; LODES et al., 1997; LUNDEN et al., 1997; MOLINA et al., 2006; NG-KWAI-HANG, 1997,1998). Por exemplo, o leite de vacas do genótipo AA de  $\beta$ -lactoglobulina apresentou 28% mais proteína do soro, 7% menos caseína, 11% mais gordura e 6% a menos de sólidos totais que o leite das vacas do genótipo BB (HILL, 1993). Robitaille et al. (2002) também observaram maior proporção (20,5%) de  $\beta$ -lactoglobulina no soro, menor de  $\alpha$ -lactalbumina (25%), e uma tendência à menor concentração de caseína no leite de animais AA, em relação aos animais de genótipo BB para  $\beta$ -lactoglobulina. Por outro lado, Lunden et al., (1997) encontraram efeito aditivo positivo do alelo B para  $\beta$ -lactoglobulina sobre o conteúdo de caseína e na relação caseína:proteína total.

Lodes et al., (1997) observaram que o genótipo BB estava associado com maiores teores de caseína e gordura no leite. Bobe et al., (1999) também verificaram que o leite de vacas do genótipo BB de  $\beta$ -lactoglobulina apresentou maior rendimento na produção de queijos e estava associado a maiores concentrações de ácidos graxos, os quais têm maiores implicações na textura e caracterização sensorial de produtos lácteos (BOBE et al., 2004). Ng-Kwai-Hang (1998), contudo, não encontrou diferenças significativas de rendimento de queijos produzidos a partir de leites de animais com genótipos AA, AB e BB para  $\beta$ -lactoglobulina, a despeito de observar que a recuperação de gordura e proteína no queijo ter sido superior para leites de genótipo BB, uma vez que as perdas no soro foram menores.

Em revisão acerca da associação entre os diferentes genótipos das proteínas do leite e a capacidade de produção de queijos, Lawrence (1997) relatou uma correlação positiva entre as concentrações de caseína total e gordura, e a diminuição de frequência de aparição do alelo A para  $\beta$ -lactoglobulina. Ainda sobre este aspecto, o autor relata que a maior parte das pesquisas na área aponta que os genótipos B para  $\beta$ -lactoglobulina estão associados a uma maior concentração de caseína total e de gordura no leite.

A fração nitrogenada do leite é uma característica particularmente importante para a fabricação de derivados lácteos, já que a caseína é a principal responsável pelo rendimento de fabricação de queijos (EMMONS et al., 2003). Hill et al. (1997) relatam que o rendimento em base seca foi 6% maior nos queijos produzidos a partir de leites com fenótipo BB em comparação aos de fenótipo AA e 3% maior do que os fabricados a partir de leite de tanque. As perdas de caseína durante o processamento também foram menores quando o leite possui fenótipo BB. Entretanto, Marziali e Ng-Kwai-Hang (1986) descreveram melhores tempos de coagulação e firmeza de coágulo para genótipos AA da  $\beta$ -lactoglobulina quando comparados com BB e AB, devido principalmente às maiores concentrações daquela proteína no leite.

Molina et al. (2006) verificaram interação entre as variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína e  $\beta$ -lactoglobulina, com combinação mais favorável entre a  $\kappa$ -caseína A e  $\beta$ -lactoglobulina AA, e  $\kappa$ -caseína B e  $\beta$ -lactoglobulina AB para o conteúdo protéico do leite de animais da raça Holandesa.

Um número reduzido de trabalhos associa as diferentes expressões fenotípicas da composição do leite dos genótipos da  $\beta$ -lactoglobulina aos fatores ambientais aos quais os animais estão submetidos. Mackle et al., (1999) investigando os efeitos de esquemas nutricionais sobre a composição do leite de vacas com diferentes genótipos para  $\beta$ -lactoglobulina, verificaram que a interação entre estes dois fatores teve importante efeito sobre as propriedades tecnológicas do leite. Tais efeitos, de acordo com os autores, foram

dependentes do genótipo da  $\beta$ -lactoglobulina em questão, que notadamente afetaram algumas frações protéicas do leite. Os autores observaram diferenças de 5,4% e 11,9% de proteína bruta do leite entre os esquemas nutricionais adotados (ingestão restrita de pasto ou suplementados com concentrado) para os animais  $\beta$ -lactoglobulina AA e BB, respectivamente. Verificaram também uma diferença de 19,2% na fração de caseína no leite dos animais AA, quando submetidos aos dois manejos nutricionais, e uma diferença de 45,0% na fração de caseína no leite dos animais BB.

Auldist et al. (2000), buscando determinar se as diferenças na composição do leite de animais com diferentes genótipos para  $\beta$ -lactoglobulina estão relacionadas com ingestão de matéria seca, submeteram 22 vacas Holandesas de genótipos AA e BB para  $\beta$ -lactoglobulina à ingestão restrita de pasto ou *ad libitum*. Os autores observaram que, comparadas aos animais submetidos ao pastoreio restrito, vacas submetidas ao pastoreio *ad libitum* produziram leite com maiores concentrações de caseínas e proteínas do soro, independentemente do genótipo. Entretanto, comparações entre os diferentes genótipos, isolados os efeitos da ingestão de matéria seca, permitiram aos autores verificar maior concentração de caseína e caseína:proteína do soro no leite de animais BB, comparado ao de vacas de genótipo AA. Puderam concluir, portanto, que não há evidências de interação entre os efeitos dos genótipos de  $\beta$ -lactoglobulina e a disponibilidade de pasto sobre a composição do leite, já que as diferenças de composição entre os genótipos persistiram sob os dois regimes de pastoreio aos quais os animais foram submetidos.

Reforçando esta ausência de relação entre alimentação e a expressão qualitativa dos genes na composição do leite, Bobe et al., (1999) e Bobe et al. (2004) observaram que os genótipos das variantes para  $\kappa$ -caseína e  $\beta$ -lactoglobulina contribuem com a maior variância fenotípica observada na composição protéica e de gordura do leite, independentemente dos manejos nutricionais adotados. De acordo com os pesquisadores, isolados os efeitos da alimentação, os genótipos de  $\kappa$ -caseína e  $\beta$ -lactoglobulina contribuíram com mais de 25% da variância fenotípica encontrada para as proteínas  $\kappa$ -caseína e  $\beta$ -lactoglobulina, respectivamente. Ainda, as variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína justificaram 10,5% da diferença nas proporções de  $\alpha_{s1}$ -caseína na proteína total e, as variantes de  $\beta$ -lactoglobulina, 4,3% e 6% das diferenças observadas entre as proporções de  $\alpha_{s1}$ - e  $\beta$ -caseínas, respectivamente, na proteína total. Os autores concluíram que as diferentes dietas ministradas produziram efeitos mínimos na composição protéica do leite.

No que tange a composição de ácidos graxos, os resultados obtidos por Bobe et al., (2004) sugerem que as variantes genéticas com o alelo B, tanto para  $\kappa$ -caseína quanto para  $\beta$ -

lactoglobulina, estão associadas com maiores concentrações de ácidos graxos de cadeias curtas (14:0, 16:0 e 16:1), e menores de ácidos graxos de cadeias longas (18:0 e 18:1), quando comparados ao alelo A.

Anteriormente, Ojala et al., (1997), acompanhando a lactação de 916 vacas da raça Holandesa e 116 da raça Jersey, observaram que as diferenças entre os genótipos de  $\beta$ -lactoglobulina não produziram efeitos significativos sobre a composição do leite de ambas as raças. Entretanto, os autores observaram que a variação fenotípica verificada no leite dos animais – 4% a mais de produção de proteína e 3% a mais de gordura - se justificaria pelo efeito exercido pelos *loci* gênicos das kappa e  $\beta$ -caseínas, e não por influência do gene da  $\beta$ -lactoglobulina.

A modificação do conteúdo protéico do leite através de manipulação genética apresenta, de certa forma, resultados mais rápidos (LAWRENCE, 1997), mesmo a expensas de um menor volume produzido, já que existe correlação genética negativa entre composição e produção de leite. Essa possibilidade de alteração da composição protéica por meio da exploração de genes específicos para uma determinada característica físico-química ou de composição vem se tornando cada vez mais freqüente dentre os programas de seleção. Revisando acerca do assunto, Litwinczuk et al., (2006) relatou que a maioria dos estudos indicam maiores teores de proteína bruta e caseína no leite de vacas BB para  $\beta$ -lactoglobulina e  $\kappa$ -caseína. Entretanto, este genótipo de  $\kappa$ -caseína também estava, de acordo com o autor, associado a menores produções de leite e tempo de coagulação.

Kay et al., (2005), avaliando os efeitos do período de lactação e da seleção genética para produção de leite sobre a composição dos ácidos graxos do leite de vacas Holandesa, verificaram que, apesar da seleção genética para produção não ter afetado os teores de proteína, lactose e gordura, alterou a composição das frações da gordura láctea. Os autores observaram que os animais selecionados produziram leite com menores teores de ácido graxos mono-insaturados, comparados ao grupo controle.

## **2.6 Estabilidade térmica do leite**

Na indústria processadora, o leite é submetido à algum tipo de tratamento térmico durante o processamento (FOX e MC SWEENWEY, 1998), cujo efeito sobre seus componentes (proteínas, lipídios, açúcar e minerais) é de grande importância para a

caracterização do produto final. Tais componentes passam por modificações que afetam a qualidade sensorial e nutricional do leite (MORALES et al., 2000).

A estabilidade térmica do leite se refere à habilidade do leite bovino resistir a temperaturas altas de processamento sem apresentar coagulação ou geleificação visíveis (SINGH, 2004), sendo esta uma característica especialmente importante para indústria láctea. Esta estabilidade é definida como sendo o tempo necessário para o aparecimento de coagulação visível em pH e temperatura definidos.

As principais variáveis que influenciam a estabilidade térmica do leite ou a manutenção da estabilidade coloidal são: tempo de armazenamento, temperatura, pH, equilíbrio salino, teor de uréia, estabilidade das micelas de caseína, período de lactação, manejo alimentar, e sanidade da glândula (SILVA e ALMEIDA, 1998; SINGH, 2004).

O método atualmente mais utilizado para se determinar estabilidade térmica do leite é aquele, no qual amostras de leite são submetidas a provas de aquecimento controlado entre 130°C e 140°C, até a observação de coagulação (SINGH, 2004). O tempo de coagulação térmica do leite é aquele entre o aumento de temperatura das amostras e a observação da coagulação, indicada por floculação, gelatinização ou alterações nas características físicas de sedimentação protéica (FOX e MC SWEENEY, 1998). Outros métodos utilizados para estimar a estabilidade térmica incluem a prova de resistência ao álcool, sedimentação de proteína e determinação da viscosidade da amostra. Entretanto, as correlações entre os diferentes métodos são de forma geral insatisfatórias, e o tempo de estabilidade obtido nos diferentes testes não corresponde às características observadas, quando da esterilização comercial do leite (SINGH, 2004). Dentre as proteínas do leite, as proteínas do soro são as mais termolábeis e a ordem de instabilidade térmica inicia-se pelas imunoglobulinas,  $\beta$ -lactoglobulina e por fim a  $\alpha$ -lactalbumina.

De acordo com Hambling et al., (1992), os efeitos do calor sobre a  $\beta$ -lactoglobulina na presença de outros componentes do leite demonstraram que a lactose estabiliza a  $\beta$ -lactoglobulina contra a desnaturação térmica, enquanto que a interação entre a  $\kappa$ -caseína e a  $\beta$ -lactoglobulina desestabiliza a mesma, provavelmente devido ao envolvimento do grupo tiol, as pontes dissulfeto e o íon  $\text{Ca}^{2+}$ .

Entretanto, de acordo com Imafidon et al., (1991) e Fox e Mc Sweeney (1998), a explicação corrente para a maior ou menor estabilidade térmica do leite e a propensão à ocorrência de coagulação recai essencialmente sobre a  $\kappa$ -caseína. Esta proteína dissocia-se das micelas quando o leite é aquecido; em pH abaixo de 6,7. A  $\beta$ -lactoglobulina reduz a dissociação da  $\kappa$ -caseína, enquanto que em pH acima deste valor, a  $\beta$ -lactoglobulina acentua a

dissociação da  $\kappa$ -caseína. De acordo com Singh (2004), o comportamento térmico das proteínas do soro é ditado, principalmente, pelas propriedades da  $\beta$ -lactoglobulina que, por sua vez, são afetadas pelo pH do meio, concentração de lactose, teor de cloretos, íons de cálcio e outros. Além disso, de acordo com o autor, é a formação do complexo  $\beta$ -lactoglobulina –  $\kappa$ -caseína na superfície da micela de caseína que altera as interações esteéricas e eletrostáticas da superfície micelar e previne a dissociação da caseína.

Law et al., (1994) observaram que a extensão da desnaturação das proteínas do soro aumentaram com temperaturas que variavam entre 72°C e 140°C, com períodos de espera de 15 segundos à 5 minutos. No primeiro minuto, as imunoglobulinas eram mais afetadas sob temperaturas entre 72°C e 90°C, enquanto que a  $\beta$ -lactoglobulina sofria alterações entre 72°C e 120°C, e a  $\alpha$ -lactalbumina entre 72°C e 140°C. Os autores observaram também que o pH tem efeito sobre o nível de desnaturação destas proteínas (Law, Banks et al., 1994): quando alterado o pH do leite e (6,5 até 9,1), e em seguida, submetido ao aquecimento à 90°C por 30 segundos, o nível de desnaturação da  $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lactalbumina e das outras proteínas do soro foi consideravelmente aumentado, à medida que se aumentava o pH.

## **2.7 Efeitos do polimorfismo da $\beta$ -lactoglobulina sobre a estabilidade térmica do leite**

Por conta da estabilidade térmica do leite ser dependente de inúmeros fatores, os efeitos das variantes de  $\beta$ -lactoglobulina sobre tal propriedade ainda não permitem resultados conclusivos.

McClean et al., (1987) observaram que a máxima estabilidade do leite, na relação tempo de coagulação sob calor versus pH, é afetada pelo genótipo da  $\beta$ -lactoglobulina, e seguem o seguinte padrão: AA>AB>BB. Robitaille (1995), trabalhando com animais da raça Holandesa, verificou ainda que tal padrão de coagulação só era observado quando o animal detinha também o genótipo AA para  $\kappa$ -caseína. Em contrapartida, Paterson et al., (1999), utilizando vacas Jersey, Holandesa e o cruzamento entre as duas raças, relataram que a combinação entre os genótipos AA para  $\beta$ -lactoglobulina e para  $\kappa$ -caseína, produziram leites de menor estabilidade na curva tempo de coagulação sob calor versus pH, apesar de produzirem leites mais estáveis quando somente o tempo de coagulação sob calor era considerado. Os autores citam que a combinação AABB para os genótipos de  $\beta$ -lactoglobulina e  $\kappa$ -caseína, respectivamente, estava associado com maior estabilidade do leite.

Para o leite bovino, a maior estabilidade térmica é obtida no pH fisiológico do leite notadamente como resultado da interação entre a  $\beta$ -lactoglobulina e  $\kappa$ -caseína na superfície da micela (MORGAN et al., 2001), e tal interação é fundamental para compreender as modificações ocorridas pelo calor observadas nos produtos lácteos (CHO et al., 2003).

O'connell et al., (2001) demonstraram que a  $\beta$ -lactoglobulina tem um efeito bastante específico sobre a estabilidade térmica do leite, já que a estabilidade é aumentada e reduzida, respectivamente, nos pH 6,7 e 6,9. Buscando verificar o efeito da  $\beta$ -lactoglobulina e da precipitação do fosfato de cálcio sobre a estabilidade térmica do leite, os autores observaram que o efeito específico da  $\beta$ -lactoglobulina sobre o pH no qual se observa a máxima estabilidade parece estar relacionado à capacidade desta proteína em quelar o cálcio. Portanto, maiores concentrações da  $\beta$ -lactoglobulina no leite estão relacionadas à maior termoestabilidade do leite, uma vez que o tempo de coagulação do leite sob o aquecimento é inversamente proporcional à concentração de cátions divalentes, como  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$ .

Imafidon et al. (1991), estudando o polimorfismo genético das proteínas lácteas sobre a estabilidade térmica da  $\beta$ -lactoglobulina e  $\kappa$ -caseína em diferentes proporções e de diferentes fenótipos, observaram que o genótipo BB da  $\beta$ -lactoglobulina produzia uma proteína mais termoestável que os outros genótipos, inclusive em diferentes relações de concentrações das proteínas  $\beta$ -lactoglobulina: $\kappa$ -caseína. Verificaram ainda que, a estabilidade da  $\beta$ -lactoglobulina era aumentada pela presença de proteínas do fenótipo AA para  $\kappa$ -caseína, e diminuída quando houvesse a expressão dos genótipos AB e BB para esta proteína. Sendo a termoestabilidade da  $\beta$ -lactoglobulina também dependente das concentrações de cálcio, os autores, utilizando *buffer* de cloreto de cálcio, observaram que as combinações entre proteínas  $\beta$ -lactoglobulina e  $\kappa$ -caseína provenientes de genótipos BBAA, respectivamente, e ABAA, produziram os sistemas mais termoestáveis, enquanto que a combinação AAAA e AABB, os de menor termoestabilidade.

Em revisão sobre o polimorfismo genético das proteínas do leite, Ng-Kwai-Hang (1992) aponta que a estabilidade é afetada pela variante da  $\beta$ -lactoglobulina, bem como pelo pH e pela temperatura. De acordo com o autor, em temperaturas abaixo de 90°C o leite proveniente de animais da variante A para  $\beta$ -lactoglobulina são mais termoestáveis, enquanto o leite da variante B tolera temperaturas superiores à 90°C. Ng-Kwai-Hang (1992) relatou ainda que, variando-se o pH entre 4 e 9, o genótipo A para  $\beta$ -lactoglobulina possui leite menos estável que o B, e ressalta que em pH 6,8, o leite proveniente de vacas de genótipo BB possui uma maior temperatura de desnaturação que aqueles de animais com a variante AB e BB.

## 2.8 Estabilidade ao álcool

A estabilidade do leite à prova do etanol foi definida como a concentração mínima de uma solução aquosa de álcool adicionada ao leite capaz de gerar sua coagulação (CHAVEZ et al., 2004). O etanol é conhecido por sua habilidade em reduzir a estabilidade coloidal da micela de caseína e, portanto, provocar a coagulação desta fração protéica (O'CONNELL et al., 2001).

O princípio do teste do etanol baseia-se no mecanismo de desestabilização das caseínas pelo efeito desnaturante do álcool, que promove a redução da constante dielétrica da mistura, tornando-a um solvente desfavorável, podendo chegar a um limite crítico em que ocorra a desestabilização e precipitação. Os principais fatores que afetam a coagulação nesse teste são as cargas e as interações entre as micelas, pH, concentrações do álcool e composição do leite (HORNE e MUIR, 1990).

A prova de estabilidade ao álcool é importante, pois constitui uma medida simples, barata, eficiente e que permite rápida detecção de leite instável, que é desclassificado devido ao aparecimento de coagulação e precipitação. O teste do álcool é utilizado pelas indústrias para avaliar a qualidade do leite nas unidades de produção leiteira, sendo as amostras positivas rejeitadas por serem consideradas inaptas aos processos de beneficiamento (ZANELA et al., 2006a).

Segundo Barros et al. (2000), a prova do álcool foi inicialmente utilizada pela indústria como uma medida indireta do pH natural do leite, já que o aumento da acidez resulta em diminuição da instabilidade, podendo provocar a precipitação da caseína. No entanto, de acordo com Oliveira e Timm (2006), a acidez em função da fermentação da lactose por crescimento de microrganismos mesofílicos no leite não é o único fator que provoca a instabilidade da proteína. Processos inflamatórios na glândula mamária aumentam a concentração de plasmina no leite (SANTOS; FONSECA, 2006), cuja ação proteolítica sobre a caseína leva à diminuição da estabilidade.

Oliveira e Timm (2006), buscando determinar a composição do leite não ácido e não mastítico, com instabilidade da caseína frente à prova do álcool a 70%, observaram que o leite com caseína instável apresentou maiores teores de gordura e menores de lactose que o leite com caseína estável, e sugeriram que a relação observada entre instabilidade e alterações na composição do leite seja devida ao manejo alimentar.



Por outro lado, Zanela et al. (2006a), avaliando os efeitos da restrição em 40% das exigências nutricionais de matéria seca, proteína e energia na alimentação de vacas Jersey no Rio Grande do Sul, sobre a ocorrência de leite instável não-ácido (LINA) e sobre a composição do leite, concluíram que a restrição alimentar aumentou a ocorrência de instabilidade à prova do álcool a 76%, entretanto observaram que a etiologia do LINA não se encontra associada apenas a fatores nutricionais, mas pode estar associada também a fatores genéticos.

### 3 OBJETIVOS

Os objetivos gerais do presente estudo foram os de avaliar o efeito do polimorfismo genético da  $\beta$ -lactoglobulina sobre as características físico-químicas e de composição do leite.

Os objetivos específicos foram:

- a) Avaliar o efeito do polimorfismo genético da  $\beta$ -lactoglobulina sobre a acidez, pH e crioscopia do leite produzido por animais da raça Holandesa e Girolanda.
- b) Avaliar a associação entre a composição do leite (gordura, lactose, sólidos totais, contagem de células somáticas, uréia, proteína bruta, proteína verdadeira, caseína e relação caseína/proteína verdadeira) e os diferentes genótipos de  $\beta$ -lactoglobulina.
- c) Avaliar o efeito das raças Holandesa e Girolanda e da sazonalidade sobre as características físico-químicas e de composição do leite.
- d) Avaliar o efeito do polimorfismo genético da  $\beta$ -lactoglobulina, raça e sazonalidade sobre a estabilidade do leite.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Seleção dos rebanhos para coleta**

O presente experimento foi realizado, em sua fase de coletas de amostras, na região de Pirassununga-SP, onde foram selecionados 11 rebanhos bovinos leiteiros comerciais, entre os quais cinco da raça Holandesa e seis da raça Girolanda. Em média foram amostradas 278 vacas Holandesa e 156 vacas Girolanda em lactação, totalizando 956 vacas amostradas em quatro períodos.

### **4.2 Seleção das vacas**

Para seleção das vacas para amostragem foram utilizados os seguintes critérios: vacas de primeira, segunda ou terceira lactação e entre 30 e 250 dias em lactação. Para as vacas da raça Girolanda, foram selecionados animais com graus de sangue entre 1/2, 3/4 e 3/8 Gir/Holandês. Foram excluídas as vacas com alterações visuais do leite detectáveis pelo teste de caneca de fundo escuro (mastite clínica) ou que foram submetidas ao tratamento de mastite nas duas semanas anteriores à coleta.

### 4.3 Coleta de amostras de leite e sangue das vacas

Foram coletadas quatro amostras individuais de leite das vacas em lactação dos rebanhos selecionados, nos seguintes períodos: coleta 1 (setembro e outubro de 2003), coleta 2 (junho e julho de 2004), coleta 3 (novembro e dezembro de 2004) e coleta 4 (janeiro e fevereiro de 2005).

Para efeitos de período de coleta de amostras, foi definido como estação chuvosa o período compreendido entre de novembro e abril, e para estação seca, os meses entre maio e outubro.

Adicionalmente, no momento da coleta foram registradas as seguintes informações de cada vaca leiteira selecionada: idade, dias em lactação e regime principal de alimentação das vacas durante o período de coleta (pasto, pasto com suplementação ou confinado).

As amostras individuais de leite foram coletadas durante a ordenha da manhã, sendo representativas de toda a ordenha de cada animal. As amostras individuais foram coletadas em latão nos sistemas de ordenha balde ao pé, a partir do balão de medição durante a ordenha ou pelo uso de dispositivos de medição por fluxo e armazenadas em tubos plásticos até a realização das análises. Para as análises físico-químicas do leite, as amostras foram mantidas resfriadas em recipientes térmicos com gelo em escamas até a realização das mesmas, em no máximo 6 horas. Para as análises de composição do leite, realizadas por absorção infravermelha, as amostras foram enviadas para o Laboratório de Fisiologia da Lactação da ESALQ – USP (Clínica do Leite) em no máximo 72 horas. Para as demais análises, as amostras de leite foram congeladas (-20° C) até sua realização.

Para a coleta de sangue, foram colhidos aproximadamente 10 mL da circulação periférica em tubo de vidro heparinizado e estéril de cada animal selecionado, os quais foram congelados a -20 C até a realização das análises para a determinação do polimorfismo genético da  $\beta$ -lactoglobulina. Essas análises foram realizadas no Laboratório de Biologia e Bioquímica Molecular na Universidade Estadual Paulista-Campus de Araçatuba.

#### 4.4 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento adotado foi o de blocos ao acaso, sendo que os blocos foram constituídos pelas fazendas selecionadas. A seleção das vacas que atenderam aos critérios de seleção foi totalmente ao acaso. Os dados foram submetidos à estatística descritiva (médias aritmética e erros padrão da média), e à análise da variância (PIMENTEL GOMES, 1985), avaliando os efeitos da raça, sazonalidade e da variante genética da  $\beta$ -lactoglobulina sobre as variáveis resposta (características físico-químicas e de composição do leite). Todos os resultados foram analisados pelo programa computacional Statistical Analysis System (SAS<sup>®</sup>, Version 8.02; SAS Institute Inc., Cary NC, 1998), considerando-se o nível de significância 0,05.

Para estimar as frequências genótípicas e alélicas da  $\beta$ -lactoglobulina entre os animais, foi realizada contagem direta de cada um dos genótipos, verificando se os valores observados obedeciam ao princípio do equilíbrio de Hardy-Weinberg de genética de populações, independentemente entre as raças estudadas, a partir do teste estatístico  $\chi^2$  (LOUIS; DEMPSTER, 1987).

Os resultados do teste de estabilidade ao álcool foram classificados inicialmente considerando o número de amostras com e sem coagulação, expressando-se em seguida, as respectivas porcentagens. Dentre as amostras que apresentaram coagulação, foi realizada a análise estatística descritiva da concentração de álcool que causou a coagulação, seguida do teste estatístico  $\chi^2$  para verificar os efeitos das variantes genéticas da  $\beta$ -lactoglobulina, da raça e da sazonalidade sobre a coagulação do leite e a respectiva graduação alcoólica.

## **4.5 Metodologias para análises**

### **4.5.1 Composição do leite e características físico-químicas do leite**

A composição do leite foi analisada no Laboratório de Fisiologia da Lactação da ESALQ – USP (Clínica do Leite), sendo as concentrações de gordura, lactose, sólidos totais analisadas por absorção infravermelha, utilizando-se equipamento Bentley 2000® (BENTLEY, 1995a) e o nitrogênio uréico no leite (mg/dL), pelo método enzimático espectrofotométrico de trans-reflectância no equipamento ChemSpeck 150® (BENTLEY, 1995b).

As características físico-químicas do leite - pH, acidez titulável (Dornic) e crioscopia foram analisadas de acordo com a metodologia descrita por Pereira et al. (2001).

### **4.5.2 Contagem de células somáticas do leite**

As amostras de leite foram coletadas, acondicionadas em frascos de plástico contendo o conservante bronopol e enviadas para o Laboratório Clínica do Leite – Departamento de Produção Animal da ESALQ-USP (Piracicaba-SP), para a realização da contagem eletrônica de células somáticas por citometria de fluxo com equipamento Somacount 300® (BENTLEY, 1995b).

### **4.5.3 Determinação de estabilidade do leite**

A determinação da estabilidade do leite foi realizada pela prova de resistência ao álcool, onde partes iguais de leite (2 ml) e soluções alcoólicas (DAVIES e WHITE, 1958) foram misturadas e homogeneizadas. Os resultados variaram entre leite coagulado e não coagulado. As graduações alcoólicas utilizadas foram 68°GL, 70°GL, 76°GL, 80°GL e 84°GL, de acordo com (DAVIES e WHITE, 1958).

### **4.5.4 Nitrogênio total (NT)**

A determinação da concentração de proteína do leite foi baseada na mensuração do NT pelo método de Kjeldahl, conforme metodologia descrita pela American Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1995); método número 33.2.11; 991.20. O nitrogênio (N) foi então multiplicado pelo fator 6,38, para que os resultados fossem expressos em proteína bruta (PB) (BARBANO et al., 1990).

### **4.5.5 Nitrogênio não-caseinose (NNC)**

As frações de NNC e de caseína do leite foram determinadas no leite conforme metodologia descrita por Lynch et al. (1998). A caseína do leite foi precipitada em pH = 4,6 usando-se solução de ácido acético e acetato de sódio. Após a precipitação, a caseína foi separada por filtração e a concentração de N do filtrado (NNC), determinada pelo método de Kjeldahl. A concentração de caseína do leite foi obtida pela subtração entre NT e NNC.

#### 4.5.6 Nitrogênio não-protéico (NNP)

As frações de NNP e de proteína verdadeira do leite foram determinadas através de metodologia descrita por Lynch et al. (1998), na qual a proteína verdadeira do leite é precipitada em solução de ácido tricloracético a 12%. Após a precipitação, a proteína verdadeira do leite foi separada por filtração e a concentração de N do filtrado (NNP) foi então determinada pelo método de Kjeldahl. A concentração de proteína verdadeira do leite foi obtida pela subtração da concentração de NT e NNP.

#### 4.5.7 Determinação do polimorfismo genético da $\beta$ -lactoglobulina

O DNA da amostra de sangue foi extraído segundo o protocolo descrito por Ciulla et al., (1988). As amostras de DNA extraídas foram submetidas à amplificação por PCR (polymerase chain reaction), os oligonucleotídeos iniciadores (primers) utilizados para tal amplificação foram sintetizados pela Invitrogen® Custom Primers (Invitrogen Corp., Carlsbad, Califórnia, USA), conforme seqüência descrita por Faria et al., (2000):

5'ACCTGGAGATCCTGCTGCAGAAATG3'

5'CATCGATCTTGAACACCGCAGGGAT3'

Tais primers amplificam uma região de 961 pares de base do éxon II e III do gene da  $\beta$ -lactoglobulina bovina. A região amplificada possui as substituições de nucleotídeos responsáveis pela diferenciação das variantes genéticas A e B. Cada reação de amplificação consistiu de tampão para PCR 1X (KCl 500 mM, Tris-Cl pH 8.3 100 mM), 0,1  $\mu$ L de cada primer (Invitrogen®), 2,0  $\mu$ L de dNTP 0,125 mM, 0,1  $\mu$ L Taq Polimerase (Cenbiot/RS, PHN/MG), 0,75  $\mu$ L MgCl<sub>2</sub> (Cenbiot/RS, PHN/MG), 5,0  $\mu$ L de DNA e água mili-Q qsp 25  $\mu$ L. Em todas as reações de amplificação utilizou-se um controle (branco/sem DNA) para confirmar a ausência de contaminação na execução da análise. As amplificações foram



realizadas em termociclador PTC 100-MJ Research® (MJ Research, Inc., Watertown, Massachusetts, USA). O programa utilizado para amplificação do gene da  $\beta$ -lactoglobulina segue descrito: desnaturação inicial a 95°C por 5 minutos seguida por 35 ciclos de 95°C por 1 minuto, 57°C por 1 minuto e 72°C por 3 minutos com extensão final a 72 °C por 5 minutos seguida de 4°C por mais 5 minutos.

Após confirmação da amplificação das amostras, correu-se eletroforese em gel de agarose a 2%, em cuba horizontal de acrílico com tampão de corrida TBE 1X a 100 volts por quarenta minutos. O produto da PCR (20,0 $\mu$ L), passou então pelo processo de RFLP (restriction fragment length polymorphism), sendo digerido pela enzima de restrição Hph-I, segundo o protocolo descrito por Wilkins e Kuys (1992). A Hph-I cliva o fragmento amplificado em 741 e 220 pares de base (pb), relativos ao genótipo AA; e 741, 220, 166 e 54 pb, relativos ao genótipo BB; ou uma combinação dos dois fragmentos, 741, 220, 166 e 54 pb, identificando os heterozigotos AB. As amostras foram amplificadas assim como digeridas em placas próprias para PCR. Dessa forma, a presença de um de animal AB em cada placa demonstrava que a reação de digestão do material havia ocorrido sendo desta forma o controle do processo de digestão. Após a identificação dos polimorfismos do gene da  $\beta$ -lactoglobulina bovina por meio da técnica de PCR-RFLP, obtiveram-se as frequências genóticas e alélicas para o rebanho estudado.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Distribuição da frequência genotípica e alélica do gene da $\beta$ -lactoglobulina

A distribuição da frequência genotípica e alélica do gene da  $\beta$ -lactoglobulina, em função das raças estudadas, está apresentada na Tabela 1.

O alelo B esteve presente em maior frequência em relação ao A, independentemente da raça (52,38% para a raça Holandesa e 58,85% para a Girolanda). No entanto, a frequência de aparecimento dos genótipos diferiu entre animais das raças Holandesa e Girolanda. Apesar do genótipo BB ter sido o mais frequente (38,85% e 44,87%), qualquer que seja a raça considerada, para a raça Holandesa, o genótipo AA foi o segundo maior em frequência (32,73%), seguido pelo AB (28,42%). Comportamento diferente foi observado para a raça Girolanda, na qual o genótipo AB (33,97%) foi mais frequente que o AA (21,15%). A Figura 2 apresenta uma eletroforese com gel de agarose com genotipagem da  $\beta$ -lactoglobulina bovina.

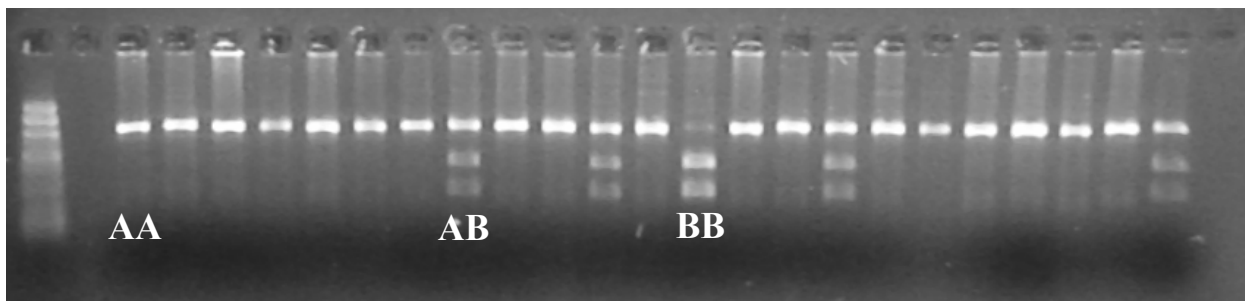


Figura 2 – Eletroforese em gel de agarose para identificação das variantes genéticas de  $\beta$ -lactoglobulina bovina (AA, AB, BB).

Tabela 1 - Distribuição das freqüências genotípica e alélica da  $\beta$ -lactoglobulina para as raças estudadas

Raça	Genótipo	N observado	N esperado	$\chi^2$	Freqüência alélica ( $\pm$ EPM <sup>a</sup> )
Holandesa	AA	91	61,25	50,84*	A = 0,4762 $\pm$ 0,0211 B = 0,5238 $\pm$ 0,0211
	AB	79	138,45		
	BB	108	78,23		
	Total	278			
Girolanda	AA	33	22,69	12,22*	A = 0,4115 $\pm$ 0,0278 B = 0,5885 $\pm$ 0,0278
	AB	53	73,59		
	BB	70	59,67		
	Total	156			

\* $P < 0,05$ , <sup>a</sup>De acordo com Oner e Elmaci, (2006)

Considerando que as freqüências genotípicas observadas da  $\beta$ -lactoglobulina foram significativamente diferentes das freqüências esperadas, estimadas pelo teste de  $\chi^2$ , as populações de vacas Holandesa e Girolanda estudadas não se encontram em equilíbrio genético, de acordo com o postulado por Hardy-Weinberg (Louis e Dempster, 1987).

Os resultados referentes à freqüência alélica da  $\beta$ -lactoglobulina entre os animais estudados obedecem à mesma tendência observada por Faria et al. (2000) que, ao avaliarem o polimorfismo genético de animais da raça Nelore encontraram freqüências de 16 e 84% para os genes A e B, respectivamente. Em relação à freqüência genotípica obtida no presente estudo, Faria et al. (2000) também observaram predominância do genótipo BB. Resultados semelhantes foram relatados por Silva e Del Lama (1997) ao avaliarem o polimorfismo genético para a  $\beta$ -lactoglobulina em quatro raças zebuínas. Estes autores concluíram que para todas as raças estudadas a freqüência do alelo B foi maior quando comparada ao alelo A (66,9% x 33,1%, 70,3% x 29,7%, 61,4% x 38,6% e 82,4% x 17,6% para as raças Gir, Guzerá, Sindi e Nelore, respectivamente).

Neves et al. (1998) ao trabalharem com rebanhos Gir (com vacas selecionadas ou não para produção de leite), verificaram freqüências maiores do alelo B para vacas selecionadas e não selecionadas. Nos animais não selecionados para produção leiteira, a concentração genotípica dos alelos A e B são, respectivamente 44,87% e 55,13%. Já nas vacas selecionadas para produção de leite, há uma diferença maior na freqüência (35 e 65% para alelos A e B, respectivamente), já que o alelo B está relacionado à maior produção de sólidos.

Ng-Kwai-Hang et al. (1986), Van Eenennaam e Medrano (1991) e Oner e Elmaci (2006) também relataram maiores freqüências para o alelo B entre os animais da raça

Holandesa, enquanto Bovenhuis e Vanarendonk (1991) observaram maior frequência deste alelo entre cruzamentos de raças de interesse na pecuária leiteira da Holanda.

A frequência genotípica nas raças européias também segue a mesma tendência. Celik (2003) também observou maiores frequências do genótipo BB para o gene da  $\beta$ -lactoglobulina em animais da raça Holandesa (52,53%). Contudo, para vacas da raça Pardo-suíça, a maior frequência observada foi do genótipo AB (53,79%). A frequência do alelo B foi maior tanto nos animais da raça Holandesa quanto nos da Pardo-suíça, 73% e 56%, respectivamente, predominantemente sob a forma dos fenótipos AB e BB.

Oner e Elmaci (2006), utilizando eletroforese em gel de amido para determinar o polimorfismo genético de vacas Holandesas na Turquia, também observaram maiores frequências genotípicas para o gene heterozigoto AB (48,2%). Na Nova Zelândia, Paterson et al. (1999) verificaram entre os animais da raça Jersey, que a frequência do genótipo AB foi maior, 43%, com predominância do alelo B entre os genótipos estudados (53%) e, entre os animais da raça Holandesa naquele país, Hill et al. (1996) constataram que este genótipo também se mostrou predominante (51%).

Também discordantes dos resultados obtidos no presente estudo, Ojala et al. (1997) observaram em rebanhos de animais da raça Holandesa e Jersey na Califórnia, maiores frequências genotípicas para o genótipo AB em ambas as raças (51% e 58%), e Ng-Kwai-Hang et al. (1990) verificaram frequência de 49% deste genótipo entre animais da raça Holandesa no Canadá.

## **5.2 Efeito do polimorfismo da $\beta$ -lactoglobulina sobre as características físico-químicas e de composição do leite**

Os resultados de probabilidade dos efeitos do polimorfismo da  $\beta$ -lactoglobulina, da raça e da sazonalidade sobre as características físico-químicas e de composição do leite, bem como as probabilidades de efeito das interações, encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2 - Probabilidade dos efeitos do polimorfismo da  $\beta$ -lactoglobulina, da raça e da sazonalidade sobre as características físico-químicas e de composição do leite e interações

Variável	Efeitos principais					
	$\beta$ -Lg	Raça	Estação do ano	Estação*Raça	Estação* $\beta$ -Lg	Raça* $\beta$ -Lg
Dornic (°D)	0,892	<b>0,012</b>	0,376	0,263	0,816	0,709
pH	0,287	<b>0,001</b>	<b>0,008</b>	0,487	0,076	0,737
Crioscopia(°H)	0,451	<b>0,012</b>	<b>0,001</b>	0,134	0,677	0,117
Gordura (%)	0,912	0,074	<b>0,002</b>	<b>0,042</b>	0,523	0,715
Lactose (%)	0,929	0,967	<b>0,001</b>	0,302	0,523	0,418
Sólidos totais (%)	0,609	0,193	<b>0,001</b>	0,351	0,435	0,448
LogCCS	0,365	0,391	<b>0,049</b>	0,432	0,494	<b>0,044</b>
Uréia (mg/dL)	0,928	<b>0,001</b>	0,907	<b>0,001</b>	0,573	0,662
Proteína Bruta (%)	0,166	0,537	<b>0,039</b>	0,589	0,221	0,181
PV (%)	0,266	0,363	<b>0,01</b>	0,655	<b>0,043</b>	0,846
Caseína (%)	0,19	0,624	<b>0,001</b>	0,909	<b>0,028</b>	0,846
Relação caseína/PV	0,135	<b>0,006</b>	<b>0,001</b>	0,324	<b>0,04</b>	0,714

Não houve efeito do polimorfismo da  $\beta$ -lactoglobulina sobre as características físico-químicas e de composição do leite, em nenhuma das variáveis estudadas. Foi verificado efeito significativo da interação da estação do ano\* $\beta$ -lactoglobulina para PV, caseína e relação caseína:PV e para a interação raça\* $\beta$ -lactoglobulina para a CCS. Não houve efeito da interação tripla para nenhuma das variáveis estudadas.

A ausência de efeito do polimorfismo da  $\beta$ -lactoglobulina sobre a composição do leite no presente estudo difere dos resultados obtidos por Ng-Kwai-Hang et al. (1986), Aleandri et al. (1990), Bovenhuis et al. (1992), e Celik (2003). Celik (2003) observou diferenças significativas na porcentagem de sólidos totais ( $P<0,05$ ) e gordura ( $P<0,01$ ) do leite de animais da raça Pardo-suiça de genótipo BB para  $\beta$ -lactoglobulina, comparados aos outros dois genótipos (AB>AA). Bovenhuis et al (1992) e Aleandri et al. (1990) relataram aumento na concentração de gordura do leite associada à  $\beta$ -lactoglobulina B, assim como de Ng-Kwai-Hang et al. (1986) que ao estudarem vacas da raça Holandesa observaram que animais com o genótipo BB produziam leite com 3,76% de gordura, enquanto animais AA produziam 3,67%.

Seguindo a mesma tendência, Hill (1993), estudando rebanhos da raça Holandesa na Nova Zelândia, verificaram efeito das variantes genéticas da  $\beta$ -lactoglobulina sobre a composição do leite, e observaram concentrações 11% menores de gordura e 6% menores de sólidos totais no leite proveniente de animais com genótipo AA. No presente experimento, a despeito da ausência de diferença estatística, as menores médias de gordura e sólidos totais foram observadas nos animais da raça Girolanda de genótipo AA para  $\beta$ -lactoglobulina (3,143

e 11,594%, respectivamente), enquanto que os maiores valores para o genótipo BB foram observados entre os animais da raça Holandesa (3,358 e 11,876%, respectivamente).

Em contrapartida, a variante AA foi associada por Hill (1993) a um aumento de 25 a 30% nas concentrações da proteína  $\beta$ -lactoglobulina no soro do leite, fato que justificaria o acréscimo relativo nos teores de proteína total e um decréscimo em relação à fração de caseína. Observou-se no presente estudo, que as médias para os teores de proteína bruta e caseína dos animais de genótipo AA, foram para a raça Holandesa de 3,153 e 2,135%, respectivamente e para a Girolanda de 3,178 e 2,160%, respectivamente.

Ng-Kwai-Hang et al. (1990), avaliando o efeito do polimorfismo genético da  $\beta$ -lactoglobulina sobre as proteínas do leite, gordura e produção durante três lactações, não verificaram, de forma semelhante ao presente estudo, nenhuma relação entre a variante genética e estas características avaliadas.

As concentrações de proteína bruta (%), proteína verdadeira (%), caseína (%), uréia (mg/dL), bem como a relação caseína/proteína verdadeira não sofreram influência do polimorfismo genético para  $\beta$ -lactoglobulina (Tabela 2). Estes resultados são similares aos obtidos por Robitaille et al. (2002), que não encontraram diferenças significativas entre os genótipos de  $\beta$ -lactoglobulina e as concentrações de caseína, mas apenas tendência ao aumento da concentração para o leite de animais com genótipos BB. Por outro lado, Lunden et al. (1997) relataram efeito positivo do alelo B do gene de  $\beta$ -lactoglobulina sobre o conteúdo de caseína e na relação caseína/proteína bruta do leite de animais das raças suecas Vermelha e Branca, e Holstein. Da mesma maneira, Coulon et al. (1998) relacionaram o aumento das proporções de caseína com a variante B da  $\beta$ -lactoglobulina. Molina et al. (2006), Bobe et al. (1999) e Ng-Kwai-Hang et al. (1990) também observaram aumento nas concentrações de proteína bruta do leite quando o alelo B foi substituído pelo alelo A. Bobe et al. (1999) e Ng-Kwai-Hang et al. (1990) atribuíram este aumento ao maior percentual de caseína, e Molina et al. (2006) ao teor de proteínas do soro.

Por sua vez, Hill et al. (1996) relataram que o genótipo AA estava associado a concentrações maiores de proteína do soro (+28%) e menores de caseína (-7%), quando comparado com o genótipo BB. Nesse caso, o aumento nas concentrações de proteína do soro para o genótipo AA seria explicado pela maior concentração de  $\beta$ -lactoglobulina no leite de animais que apresentavam esse genótipo, não havendo diferença nos teores de proteína bruta entre genótipos AA e BB. Bobe et al (1999) também verificaram maiores proporções de  $\beta$ -lactoglobulina e menores das frações de caseína na proteína total do leite de animais com o genótipo AA para  $\beta$ -lactoglobulina quando comparado ao de animais de genótipo BB.

No presente estudo, as médias verificadas para a variável caseína:proteína verdadeira entre os animais de genótipo AA foram 0,724 para a raça Holandesa e 0,731 para a Girolanda. De acordo com Karatzas e Turner (1997), e Fox e Mc Sweeney (1998), o teor maior de  $\beta$ -lactoglobulina na proteína verdadeira é uma característica de importância considerável, já que essa proteína, sob tratamento térmico tem forte interação com outras moléculas do leite, inclusive com a  $\kappa$ -caseína.

### **5.3 Efeito da sazonalidade e raça sobre as características físico-químicas e de composição do leite**

Os resultados do efeito da sazonalidade sobre as características físico-químicas e de composição do leite estão apresentados na Tabela 2 e 3. Houve efeito significativo ( $P < 0,05$ ) da estação do ano sobre as características físico-químicas e de composição, com exceção da gordura e uréia (Tabela 3).

Os valores médios de acidez titulável (16,621 e 16,341°D), pH (6,765 e 6,798) e crioscopia (-0,5411 e -0,5376°H) diferiram entre as estações chuvosa e seca respectivamente, embora se mantivessem dentro da faixa de valores normais de acordo com a Instrução Normativa 51 (Brasil, 2002). Os valores médios observados obedecem tendência semelhante à verificada por Ponce e Hernández (2001). Os autores associaram a época seca com a menor disponibilidade e qualidade dos alimentos fornecidos aos animais, o que limita o fornecimento de energia ao tecido epitelial mamário, acabando por afetar a secreção láctea, diminuindo a acidez titulável e incrementando o pH.

Lindmark-Mansson et al. (2003), avaliando a composição do leite de 9 produtores de leite, geograficamente dispersos na Suécia, durante um ano, observaram efeito da sazonalidade ( $P < 0,001$ ) sobre o pH (6,68 e 6,73) e crioscopia (-0,534 e -0,523°C), no verão e inverno, respectivamente. Schukken et al. (1992), buscando descrever a tendência da variação do ponto crioscópico do leite de tanque de aproximadamente 10.000 fazendas no Canadá, verificaram efeito significativo da sazonalidade neste parâmetro. Os autores observaram ponto crioscópico médio maior durante o verão (junho e julho), e menor no inverno (dezembro e janeiro).

Martins et al. (2006), avaliando a variação da produção e a qualidade do leite produzido na bacia leiteira de Pelotas, RS, em diferentes meses do ano, verificaram diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) nos valores de crioscopia e acidez entre os meses avaliados. Durante os meses mais quentes, os autores observaram valores médios de acidez titulável que variaram de 16 a 17,5°D, e de crioscopia que variavam de -0,536 a -0,544°H.

No presente estudo, a partir dos valores observados na Tabela 3, pode-se verificar que na estação seca o LogCCS (2,34) foi menor e o teor de lactose maior (4,50%) que os valores observados no período chuvoso. Os valores médios observados no período chuvoso para as características de composição de lactose (4,34%), sólidos totais (11,65%), LogCCS (2,44 - o que representaria um valor absoluto de aproximadamente 275.000 células/mL), proteína bruta (3,08%), proteína verdadeira (2,84%), caseína (2,01%) e relação caseína:proteína verdadeira (0,70) diferiram estatisticamente ( $P < 0,05$ ) das médias obtidas durante o período de seca. No Estado de Goiás, Bueno et al. (2005) também observaram redução da concentração de lactose quando a CCS aumentou (342.000 células/mL). Essa redução provavelmente deve-se à lesão tecidual e também à passagem do carboidrato do lúmen alveolar para a corrente sanguínea (BANSAL et al., 2005).

A ocorrência aumentada de casos de mastite clínica neste período se dá em razão da maior precipitação pluviométrica e temperatura ambiente, que aumentam a susceptibilidade de infecção intramamária pelo aumento do número de patógenos aos quais estaria exposta (SANTOS e FONSECA, 2006).

Martins et al. (2006), avaliando a produção e a qualidade de leite de nove unidades produtoras na bacia leiteira de Pelotas, não observaram diferença significativa entre as médias de contagens de células somáticas durante os onze meses avaliados, a despeito da precipitação pluviométrica recorrente. Observaram, entretanto, maiores valores ( $P < 0,05$ ) entre os teores de proteína bruta, caseína e proteína verdadeira durante os meses de primavera e verão, diferentemente do que se observou no presente trabalho (2,10% e 2,84%, respectivamente). Durante a estação seca do período experimental do presente estudo, foram observadas as médias 2,91% e 2,13% para caseína e proteína verdadeira, respectivamente.



Tabela 3 – Efeito da sazonalidade sobre as características físico-químicas e de composição do leite

Variável	Chuva			Seca			P
	N	Média	EPM	N	Média	EPM	
Dornic (°D)	343	16,621	0,104	577	16,341	0,085	0,042
pH	338	6,765	0,005	536	6,798	0,005	0,001
Crioscopia(°H)	323	-0,5411	0,0004	552	-0,5376	0,0003	0,001
Gordura (%)	336	3,257	0,042	565	3,294	0,030	0,473
Lactose (%)	339	4,347	0,012	581	4,502	0,009	0,001
Sólidos totais (%)	337	11,659	0,052	568	11,904	0,036	0,001
LogCCS	348	2,443	0,032	605	2,348	0,027	0,029
Uréia (mg/dL)	334	16,176	0,279	598	15,829	0,158	0,244
Proteína Bruta (%)	292	3,084	0,016	577	3,144	0,011	0,002
PV (%)	248	2,848	0,018	575	2,919	0,011	0,001
Caseína (%)	197	2,010	0,021	564	2,132	0,011	0,001
Relação caseína/PV	197	0,706	0,003	564	0,728	0,001	0,001

P: Probabilidade ao nível de 5% de significância.

Observou-se efeito significativo ( $P < 0,05$ ) das raças estudadas sobre as características físico-químicas de acidez titulável e pH, e sobre as variáveis de composição do leite estudadas de uréia, gordura e proteína bruta. As maiores médias observadas para a raça Holandesa foram as de gordura (3,32%), uréia (16,62 mg/dL) e proteína bruta (3,17%), enquanto que vacas Girolanda apresentaram concentrações de 3,20%, 14,45 mg/dL e 3,09%, para os mesmos componentes, respectivamente. As médias de acidez titulável e pH foram de 16,16°D e 17,07°D, 6,78 e 6,75, para as raças Holandesa e Girolanda, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 5 – Efeito das raças estudadas sobre as características físico-químicas e de composição do leite

Variável	Holandesa			Girolanda			P
	N	Média	EPM	N	Média	EPM	
Dornic (°D)	635	16,162	0,079	285	17,077	0,113	0,001
pH	581	6,789	0,004	293	6,756	0,006	0,001
Crioscopia (°H)	597	-0,5402	0,0003	278	-0,5391	0,001	0,054
Gordura (%)	622	3,316	0,029	279	3,20	0,046	0,031
Lactose (%)	628	4,439	0,009	292	4,457	0,014	0,320
Sólidos totais (%)	621	11,845	0,035	284	11,742	0,057	0,115
LogCCS	654	2,377	0,025	299	2,397	0,038	0,666
Uréia (mg/dL)	643	16,628	0,157	289	14,452	0,279	0,001
Proteína Bruta (%)	599	3,137	0,011	270	3,094	0,017	0,033
PV (%)	575	2,909	0,011	248	2,869	0,018	0,057
Caseína (%)	535	2,11	0,012	226	2,079	0,020	0,192
Relação caseína/PV	535	0,723	0,001	226	0,722	0,003	0,965

P: Probabilidade ao nível de 5% de significância.

As médias dos teores de gordura apresentaram diferença ( $P < 0,05$ ) entre as raças estudadas, sendo 3,316% para Holandesas e 3,20% para Girolandas. Tomando como referência os demais componentes do leite, as médias dos resultados de composição do leite obtidas para os animais da raça Holandesa por Zanela et al. (2006a), pouco diferiram numericamente dos obtidos no presente estudo, com exceção dos valores de caseína.

Por outro lado, as médias obtidas para as variáveis proteína e gordura nos animais da raça Holandesa foram superiores aos obtidos por Ribas (1998) - 3,11% e 3,23%, respectivamente -, e inferiores aos valores obtidos por Teixeira et al. (2003), que foram 3,14% e 3,57%, respectivamente.

Em dados compilados de controles leiteiros individuais de 24.299 animais da raça Girolanda, Verneque et al. (2005) observaram teores médios de gordura de 3,92% e desvio-padrão de  $\pm 0,80$ . Já a média de porcentagem de proteína de 16.866 amostras foi de 3,31% $\pm 0,39$ , de lactose de 4,64% $\pm 0,33$  e o teor médio de sólidos totais foi de 12,70% $\pm 1,28$ . Os resultados das variáveis gordura, proteína, lactose e sólidos totais, observados entre os animais da raça Girolanda no presente experimento foram, respectivamente, 3,20%, 3,09%, 4,45% e 11,74%.

Os teores de nitrogênio uréico no leite também diferiram entre as raças estudadas. De acordo com Arunvipas et al. (2003), que estudaram os efeitos de fatores não-nutricionais, como raça, estágio da lactação e prenhez da vaca, produção e composição do leite sobre as concentrações de uréia no leite, verificaram que tais fatores explicaram 13,3% nas variações de nitrogênio uréico no leite, e que havia uma relação quadrática entre os teores de gordura e esta variável. Os autores observaram maiores concentrações de NUL em animais com maiores porcentagens médias de gordura no leite, situação similar à observada no presente experimento.

Em relação ao efeito das raças estudadas sobre as características físico-químicas do leite, a acidez titulável da raça Holandesa foi menor ( $P < 0,05$ ) que o de animais da raça Girolanda (16,162 e 17,077°D, respectivamente). Entretanto, observou-se tendência contrária em relação ao pH (6,789 e 6,756, para as raças Holandesa e Girolanda, respectivamente). De acordo com Santos e Fonseca (2006), logo após sua obtenção, o leite apresenta reação ligeiramente ácida, devido a alguns de seus componentes. Essa acidez, chamada de natural ou aparente, é causada pela albumina (1°D), pelos citratos (1°D), pelo dióxido de carbono (1°D), pelas caseínas (5 a 6°D) e pelos fosfatos (5°D). Entretanto, no presente estudo não se observou diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre os teores de caseína das duas raças estudadas que justificasse a maior média de acidez titulável observada na raça Girolanda.

#### **5.4 Efeito do polimorfismo da $\beta$ -lactoglobulina, raça e sazonalidade sobre a estabilidade do leite**

A distribuição das amostras de leite que apresentaram ou não coagulação, em relação ao polimorfismo genético da  $\beta$ -lactoglobulina está apresentada na Tabela 5. Dentre as 953 amostras de leite avaliadas, 30,75% apresentaram coagulação frente à prova de estabilidade ao álcool, sendo que 72 amostras provinham de animais com genótipo AA para  $\beta$ -lactoglobulina, 106 de animais da variante AB, enquanto que 115 amostras pertencem ao genótipo BB. Análise estatística pelo teste do  $\chi^2$  não identificou diferença significativa entre a frequência de amostras com e sem coagulação entre os genótipos estudados ( $P = 0,093$ ).

Tabela 5 – Distribuição das amostras, coaguladas e não coaguladas em relação ao polimorfismo genético de  $\beta$ -lactoglobulina

Genótipo	Coagulação	Sem coagulação	Total
AA	72 (28,45%)	181 (71,55%)	253
AB	106 (35,57%)	192 (64,43%)	298
BB	115 (28,61%)	287 (71,39%)	402
Total	293 (30,75%)	660 (69,35%)	953

$\chi^2 = 4,74$  ( $P=0,093$ )

No presente estudo, entre as amostras provenientes de genótipo AA (253), 28,45% coagularam, enquanto 71,55% não apresentaram coagulação. Dentre as 298 amostras de leite do genótipo AB, 35,57% coagularam e 64% se apresentaram mais estáveis. Do total de amostras BB, 71,39% não apresentaram coagulação, enquanto 28,61% apresentaram instabilidade frente à prova do álcool. Os resultados obtidos referentes aos efeitos do polimorfismo da  $\beta$ -lactoglobulina sobre a estabilidade do leite frente à prova do álcool, distribuídas em função da graduação alcoólica utilizada entre as amostras coaguladas, estão apresentados na tabela 6.

Tabela 6 - Efeito do polimorfismo genético da  $\beta$ -lactoglobulina sobre o número de amostras coaguladas à prova do álcool nas graduações alcoólicas 70, 76, 80 e 84°GL

Genótipo $\beta$ -Lg	GRADUAÇÃO ALCOÓLICA				Total
	70°GL	76°GL	80°GL	84°GL	
AA	3	17	18	34	72
AB	19	20	26	41	106
BB	24	21	33	37	115
Total	46	58	77	112	293
$\chi^2$	10,0*	0,904 <sup>NS</sup>	0,493 <sup>NS</sup>	4,367 <sup>NS</sup>	4,74 <sup>NS</sup>

NS: Não significativo; \*  $P < 0,01$

No presente estudo, observou-se efeito significativo ( $P < 0,01$ ) do polimorfismo da  $\beta$ -lactoglobulina sobre a estabilidade das amostras coaguladas, na graduação alcoólica de 70°GL. As médias de graduação alcoólica que ocasionaram coagulação nas amostras de leite dos genótipos AA, AB, BB são diferentes estatisticamente ( $P < 0,05$ ) e foram, respectivamente, 80,5°GL, 79°GL e 78,4°GL. Os resultados obtidos são similares aos observados por Feagan et al. (1972) que, estudando os efeitos das variantes genéticas de  $\beta$ -lactoglobulina sobre a

estabilidade térmica do leite, verificaram que o tempo de coagulação seguiu a tendência AA>AB>BB.

Lima (2005), que avaliou a correlação entre as variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína e a ocorrência de alterações das características físico-químicas e de composição do leite, encontrou, entre os animais da raça Holandesa, frequências alélicas de 83% e 17%, para os alelos A e B, respectivamente, e de 80% e 20%, para os mesmos alelos, entre os animais da raça Girolanda. Tal fato poderia justificar a maior estabilidade do leite observada entre os genótipos AA para  $\beta$ -lactoglobulina do presente estudo, já que, segundo Robitaille (1995), a estabilidade térmica do leite de genótipo AA para  $\beta$ -lactoglobulina só era maior que a do leite de genótipo BB quando o genótipo para  $\kappa$ -caseína fosse AA.

Imafidon et al. (1991) observaram que o genótipo BB da  $\beta$ -lactoglobulina produziu uma proteína mais termoestável que os outros genótipos, inclusive em diferentes relações de concentrações das proteínas  $\beta$ -lactoglobulina: $\kappa$ -caseína. Entretanto, de forma similar aos trabalhos de Lima (2005) e Robitaille (1995), e Robitaille e Ayers (1995), verificaram que a estabilidade da  $\beta$ -lactoglobulina era aumentada pela presença de proteínas do fenótipo AA para  $\kappa$ -caseína, e diminuída quando houvesse a expressão dos genótipos AB e BB para esta proteína.

Hill et al. (1997) citam que a estabilidade térmica do leite de genótipo B é menor quando comparado ao genótipo A, sob aquecimento à temperatura de 70 - 90°C. Além disso, a forma da curva do tempo de coagulação em função do pH do leite pode ser fortemente influenciada pela variante genética da  $\beta$ -lactoglobulina (FEAGAN et al., 1972), sendo que leites provenientes de animais de genótipos BB apresentam maior tempo de estabilidade sob pH 7,0 enquanto que genótipos AA, sempre apresentam maior tempo de estabilidade térmica sob pH entre 6,7 e 6,8, e comportamento intermediário do genótipo AB, situação similar ao que foi encontrada no presente experimento (pHAA=6,79, pHAB= 6,78 e pHBB= 6,78, para os animais da raça Holandesa; e pHAA= 6,75, pHAB= 6,74 e pHBB= 6,76, para animais da raça Girolanda).

Singh (2004) afirma que, apesar dos diferentes comportamentos do leite frente ao aquecimento, observados entre os genótipos AA, AB, e BB, ainda não está claro se o efeito está na dependência da proporção da proteína  $\beta$ -lactoglobulina, já que a quantidade deste componente é maior em genótipos AA, ou em função da reatividade térmica das diferentes variantes genéticas.

A distribuição das amostras de leite que apresentaram ou não coagulação, em relação às raças estudadas, está apresentada na tabela 7. Dentre as 654 amostras de leite de animais da

raça Holandesa avaliadas, 76,15% não apresentaram coagulação frente à prova de estabilidade ao álcool, enquanto 23,85% (156 amostras) apresentaram coagulação. Já entre as amostras de leite provenientes de animais da raça Girolanda, 54,18% (162 amostras) se mostraram mais estáveis, enquanto que 45,82% (137 amostras) coagularam sob alguma das graduações alcoólicas adotadas para a prova de estabilidade do leite.

Tabela 7 – Distribuição das amostras, coaguladas e não coaguladas em relação às raças estudadas

Raça	Coagulação	Sem coagulação	Total
Holandesa	156 (23,85%)	498 (76,16%)	654
Girolanda	137 (45,82%)	162 (54,18%)	299
Total	293 (30,74%)	660 (69,25%)	953

$\chi^2 = 46,499$  ( $P < 0,001$ )

O leite de vacas Holandesa apresentou maior porcentagem de amostras não coaguladas indicando maior estabilidade do leite desta raça. Os resultados obtidos referentes aos efeitos da raça sobre a estabilidade do leite frente à prova do álcool estão apresentados na tabela 8.

Tabela 8 - Efeito da raça sobre estabilidade do leite frente à prova do álcool nas graduações alcoólicas 70, 76, 80 e 84°GL

Raça	GRADUAÇÃO ALCOÓLICA				Total
	70°GL	76°GL	80°GL	84°GL	
Holandesa	19	24	42	71	156
Girolanda	27	34	35	41	137
Total	46	58	77	112	293
$\chi^2$	16,75*	21,29*	7,71*	1,61 <sup>NS</sup>	46,49

NS: Não significativo; \*  $P < 0,01$

Os resultados obtidos no presente experimento permitem verificar que houve diferença significativa ( $P < 0,01$ ) entre a estabilidade do leite proveniente de animais das raças Holandesa e Girolanda, nas graduações alcoólicas de 70, 76, 80°GL. Ainda, entre as amostras coaguladas, o leite de vacas Holandesa desestabilizou, em média, sob maior graduação alcoólica (79,98°GL), enquanto que o leite de animais Girolanda foi mais instável

coagulando-se menor concentração alcoólica (78,23°GL), sendo estatisticamente diferentes ( $P < 0,05$ ).

Não há relatos na literatura indexada que associem as diferentes raças leiteiras à estabilidade térmica do leite, porém, de acordo com Santos e Fonseca (2006), o equilíbrio salino influencia a estabilidade térmica do leite e, portanto, alterações de permeabilidade vascular ocasionadas pela mastite alteram este equilíbrio, afetando a estabilidade do leite. No presente estudo, apesar de não ter sido verificado efeito de raça sobre a variável LogCCS, a menor estabilidade do leite proveniente de vacas Girolanda pode estar associada a maior incidência de mastite nos animais daquela raça. Além disso, Gencurova et al. (1993) também observaram menores estabilidades, frente a prova do álcool, em amostras de leite de vacas com pequenas variações médias entre CCS de animais da raça Red Holstein e Black Pied Lowland (154.000 e 184.000 células/mL, respectivamente), o que poderia explicar o possível confundimento decorrente da análise do fator raça sobre estabilidade do leite.

Segundo Horne e Muir (1990), a estabilidade do leite frente à prova do álcool obedece a um comportamento quadrático em função do pH normal do leite. Sendo assim, de acordo com os autores, o leite tende a uma maior estabilidade à medida que se aproxima do pH 6,8, diminuindo sua estabilidade gradativamente após o pH 7,0. No presente estudo, observou-se efeito das raças avaliadas sobre o pH das amostras (média de pH = 6,789 no leite de Holandesa e 6,756 no leite de Girolanda), o que também poderia explicar a maior estabilidade do leite de vacas Holandesa e denotar confundimento entre o fator responsável pelo efeito sobre a estabilidade do leite.

Ainda, de acordo com Fox e McSweeney (1998), a estabilidade térmica do leite é dependente das concentrações de cálcio, fósforo, citrato e do NUL, sendo maior quanto maiores os teores deste último componente. Tendo havido efeito da raça sobre as concentrações de NUL (16,628 mg/dL e 14,452 mg/dL, para Holandesa e Girolanda, respectivamente), pode-se especular efeito desta variável sobre a estabilidade do leite, já que tal observação foi também verificada por Gencurova et al. (1993).

A distribuição das amostras de leite que apresentaram ou não coagulação, em relação à estação do ano está apresentada na Tabela 9. Dentre as 605 amostras de leite avaliadas na estação seca, 33,55% (203 amostras) apresentaram coagulação, enquanto que 66,45% (402 amostras) não apresentaram instabilidade neste mesmo período, independentemente do teor de álcool utilizado para a prova. Já na estação de chuvas, das 348 amostras analisadas, 74,14% não apresentaram coagulação em qualquer solução alcoólica adotada, enquanto que 25,86% se mostraram menos estáveis.

Tabela 9 – Distribuição das amostras, coaguladas e não coaguladas, em relação à estação do ano em que se realizaram as coletas

<b>Estação do ano</b>	<b>Coagulação</b>	<b>Sem coagulação</b>	<b>Total</b>
Seca	203 (33,55%)	402 (66,45%)	605
Chuva	90 (25,86%)	258 (74,14%)	348
<b>Total</b>	<b>293 (30,75%)</b>	<b>660 (69,25%)</b>	<b>953</b>

$\chi^2 = 6,13$  ( $P=0,013$ )

Houve efeito significativa ( $P=0,013$ ) da sazonalidade sobre a estabilidade do leite, sendo verificada maior estabilidade na estação chuvosa. Entre as amostras coaguladas, nas diferentes graduações alcoólicas adotadas no presente experimento (Tabela 10) não se verificaram diferenças estatísticas entre as estações seca e chuvosa. Tal fato se evidencia pela similaridade entre as médias alcoólicas sob as quais as amostras instáveis coagularam (79,04°GL na estação chuvosa, e 79,22°GL na seca).

Tabela 10 - Efeito do período de coleta sobre estabilidade do leite frente à prova do álcool nas graduações alcoólicas 70, 76, 80 e 84°GL

<b>Estação do ano</b>	<b>GRADUAÇÃO ALCOÓLICA</b>				<b>Total</b>
	<b>70°GL</b>	<b>76°GL</b>	<b>80°GL</b>	<b>84°GL</b>	
Seca	31	42	50	80	156
Chuva	15	16	27	32	137
<b>Total</b>	<b>46</b>	<b>58</b>	<b>77</b>	<b>112</b>	<b>293</b>
$\chi^2$	0,318 <sup>NS</sup>	2,12 <sup>NS</sup>	0,076 <sup>NS</sup>	3,45 <sup>NS</sup>	6,13

Avaliando a composição do leite não-ácido e não-mastítico no Rio Grande do Sul, entre os meses de abril de 2002 e março de 2003, Oliveira e Timm (2006) verificaram que os teores médios de gordura foram maiores (3,30%) em amostras de leite instáveis à prova do álcool do que não apresentaram coagulação (3,04%). Também observaram menores teores de lactose em amostras instáveis (4,16%) que em amostras estáveis (4,33%). Entretanto, não observaram diferenças ( $P<0,05$ ) nos teores de proteína e sólidos totais entre os leites estáveis e instáveis.



## 6 CONCLUSÃO

A partir dos resultados do presente estudo, pode-se concluir que:

- a) Não se observou associação entre a composição do leite (gordura, lactose, sólidos totais, contagem de células somáticas, uréia, proteína bruta, proteína verdadeira, caseína e relação caseína/proteína verdadeira) e os diferentes genótipos de  $\beta$ -lactoglobulina, independentemente da raça.
- b) Houve efeito das raças Holandesa e Girolanda sobre as características físico-químicas (acidez titulável e pH) e de composição do leite (gordura, NUL e PB).
- c) Houve efeito sazonalidade sobre as características físico-químicas (acidez titulável, pH e crioscopia) e de composição do leite (lactose, sólidos totais, CCS, PB, PV, caseína e relação caseína:proteína verdadeira).
- d) Verificou-se efeito da raça e estação do ano sobre a estabilidade do leite, sendo o leite mais instável para raça Girolanda e na estação seca, mas não se observou efeito do polimorfismo da  $\beta$ -lactoglobulina sobre a estabilidade do leite.

## REFERÊNCIA

- ALEANDRI, R.; BUTTAZZONI, L. G.; SCHNEIDER, J. C.; CAROLI, A.; DAVOLI, R. The Effects of milk protein polymorphisms on milk components and cheese-producing ability. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 2, p. 241-255, 1990.
- ALEXANDER, L. J.; HAYES, G.; BAWDEN, W.; STEWART, A. F.; MACKINLAY, A. G. Complete nucleotide sequence of the bovine beta-lactoglobulin gene. **Animal Biotechnology**, v. 4, n. 1. p. 110, 1993.
- 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**, v. 80, n. 11, p. 3040-3049, 1997.
- AMERICAN ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 16. ed. Arlington, VA.: AOAC International, 1995. 452 p.
- AQUINO, A. A. **Efeito de níveis crescentes de uréia na dieta de vacas em lactação sobre produção, composição e qualidade do leite**. 2005. 90 p. Dissertação (Mestrado em Nutrição Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2005.
- ARUNVIPAS, P.; DOHOO, I. R.; VANLEEUEWEN, J. A.; KEEFE, G. P. The effect of non-nutritional factors on milk urea nitrogen levels in dairy cows in Prince Edward Island, Canada. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 59, n. 1-2, p. 83-93, 2003.
- ASCHAFFENBURG, R.; DREWRY, J. Occurrence of different beta-lactoglobulins in cows milk. **Nature**, v. 176, n. 4474, p. 218-219, 1955.
- AULDIST, M. J.; HUBBLE, I. B. Effects of mastitis on raw milk and dairy products. **Australian Journal of Dairy Technology**, v. 53, n. 1, p. 28-36, 1998.
- AULDIST, M. J.; THOMSON, N. A.; MACKLE, T. R.; HILL, J. P.; PROSSER, C. G. Effects of pasture allowance on the yield and composition of milk from cows of different beta-lactoglobulin phenotypes. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 9, p. 2069-2074, 2000.
- BANKS, J. M. Nutritional factors affecting cheese yield. In: LAWRENCE, R. C. (Ed.). **Practical guide for control of cheese yield**. Bruxelas, Bélgica: International Dairy Federation Publications, Nutritional factors affecting cheese yield, 2000. p. 113.
- BANSAL, B. K.; HAMANN, J.; GRABOWSKI, N. T.; SINGH, K. B. Variation in the composition of selected milk fraction samples from healthy and mastitic quarters, and its significance for mastitis diagnosis. **Journal Of Dairy Research**, v. 72, n. 2, p. 144-152, 2005.
- BARBANO, D. M.; CLARK, J. L.; DUNHAM, C. E.; FLEMING, J. R. Kjeldahl method for determination of total nitrogen-content of milk - Collaborative Study. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 73, n. 6, p. 849-859, 1990.

- 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**, v. 85, n. 11, p. 2948-2963, 2002.
- BARROS, L.; DENIS, N.; NUNEZ, A.; GONZALEZ, O.; GALAIN, C.; DE TORRES, E. Variations of milk and blood composition in cows related to alcohol test in milk. **Revue De Medecine Veterinaire**, v. 151, n. 7, p. 663-663, 2000.
- BENTLEY. **Bentley 2000: Operator`s manual**. Chasca: Bentley Instruments, 1995a. 77 p.
- BENTLEY. **Somacount 500: Operator`s manual**. Chasca. Bentley Instruments, 1995b. 83 p.
- 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**, v. 76, n. 8, p. 2292-2298, 1993.
- BOBE, G.; BEITZ, D. C.; FREEMAN, A. E.; LINDBERG, G. L. Effect of milk protein genotypes on milk protein composition and its genetic parameter estimates. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 12, p. 2797-2804, 1999.
- BOBE, G.; FREEMAN, A. E.; LINDBERG, G. L.; BEITZ, D. C. The influence of milk protein phenotypes on fatty acid composition of milk from Holstein cows. **Milchwissenschaft**, v. 59, n. 1-2, p. 3-6, 2004.
- BOVENHUIS, H.; VANARENDONK, J. A. M. Estimation of milk protein gene-frequencies in crossbred cattle by maximum-likelihood. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 8, p. 2728-2736, 1991.
- BOVENHUIS, H.; VANARENDONK, J. A. M.; KORVER, S. Associations between milk protein polymorphisms and milk production traits. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 9, p. 2549-2559, 1992.
- BRASIL. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 51, DE 18 DE SETEMBRO DE 2002, Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade, Qualidade, Coleta e Transporte de Leite. **Diário Oficial da União, Brasília, DF, 21 set. 2002. Seção 1, p. 13.**
- BRAUNITZER, G.; CHEN, R.; SCHRANK, B.; STANGL, A. Die sequenzanalyse des beta-lactoglobulins. **Hoppe-Seyler's Zeitung für Physiologie und Chemie**, v.353, p.832-834, 1972.
- BRODERICK, G. A.; CLAYTON, M. K. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 11, p. 2964-2971, 1997.
- BUENO, V. F. F.; MESQUITA, A. J.; NICOLAU, E. S.; OLIVEIRA, A. N.; OLIVEIRA, J. P.; NEVES, R. B. S.; MANSUR, J. R. G.; THOMAZ, L. W. Somatic cell count: relationship to milk composition and period of the year in Goiás State, Brazil. **Ciência Rural**, v. 35, n. 4, p. 848-854, 2005.

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

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

CARLSSON, J.; BERGSTROM, J.; PEHRSON, B. Variations with breed, age, season, yield, stage of lactation and herd in the concentration of urea in bulk milk and in individual cows milk. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 36, n. 2, p. 245-254, 1995.

CELIK, S. Beta-Lactoglobulin genetic variants in Brown Swiss breed and its association with compositional properties and rennet clotting time of milk. **International Dairy Journal**, v. 13, n. 9, p. 727-731, 2003.

CHAVEZ, M. S.; NEGRI, L. M.; TAVERNA, M. A.; CUATRIN, A. Bovine milk composition parameters affecting the ethanol stability. **Journal of Dairy Research**, v. 71, n. 2, p. 201-206, 2004.

CHO, Y. H.; SINGH, H.; CREAMER, L. K. Heat-induced interactions of beta-lactoglobulin A and kappa-casein B in a model system. **Journal of Dairy Research**, v. 70, n. 1, p. 61-71, 2003.

CIULLA, T. A.; SKLAR, R. M.; HAUSER, S. L. A simple method for DNA purification from peripheral blood. **Analytical Biochemistry**, v. 174, n. 2, p. 485-488, 1988.

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**, v. 68, n. 4, p. 569-577, 2001.

COULON, J. B.; HURTAUD, C.; REMOND, B.; VERITE, R. Factors contributing to variation in the proportion of casein in cows' milk true protein. **Productions Animales**, v. 11, n. 4, p. 299-310, 1998.

DAVIES, D. T.; WHITE, J. C. D. The relation between the chemical composition of milk and the stability of the caseinate complex - 2: Coagulation by ethanol. **Journal of Dairy Research**, v. 25, n. 2, p. 256-266, 1958.

DAVIS, S. R. Lactational traits of importance in dairy cows and applications for emerging biotechnologies. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 53, n. 6, p. 400-405, 2005.

DEBELJAK, M.; SUSNIK, S.; MILOSEVIC-BERLIC, T.; MEDRANO, J. F.; DOVC, P. Gene technology and milk production. **Food Technology And Biotechnology**, v. 38, n. 2, p. 83-89, 2000.

DEPETERS, E. J.; CANT, J. P. Nutritional Factors Influencing the Nitrogen Composition of Bovine Milk: A Review. **Journal of Dairy Science**, 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**, v. 75, n. 11, p. 3192-3209, 1992.

DEVOLD, T. G.; BROVOLD, M. J.; LANGSRUD, T.; VEGARUD, G. E. Size of native and heated casein micelles, content of protein and minerals in milk from Norwegian Red Cattle - effect of milk protein polymorphism and different feeding regimes. **International Dairy Journal**, v. 10, n. 5-6, p. 313-323, 2000.

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

EMMONS, D. B.; DUBE, C.; MODLER, H. W. Transfer of protein from milk to cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 2, p. 469-485, 2003.

FARIA, F. J. C.; GUIMARAES, S. E. F.; MOURAO, G. B.; LIMA, R. M. G.; PINHEIRO, L. E. L. Polimorphism analysis of beta-lactoglobulin gene on Nellore cows and effects on weaning weight of the calves. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 3, p. 261-265, 2000.

FEAGAN, J. T.; BAILEY, L. F.; HEHIR, A. F.; MCLEAN, D. M.; ELLIS, N. J. S. Coagulation of milk proteins 1: Effect of genetic variants of milk proteins on rennet coagulation and heat stability of normal milk. **Australian Journal of Dairy Technology**, v. 27, n. 4, p. 129-134, 1972.

FORMAGGIONI, P.; SUMMER, A.; MALACARNE, M.; MARIANI, P. **Milk protein polymorphism**: detection and diffusion of the genetic variants in *Bos* genus. Univerità degli Studi di Parma. Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria, Vol. XIX, 1999. Disponível em: <<http://www.unipr.it/arpa/facvet/annali/1999/formaggioni/formaggioni.htm>> Acesso em: 25 agosto de 2006.

FOX, P. F.; MCSWEENWEY, P. L. H. **Dairy chemistry and biochemistry**. London: Blackie Academic & Professional, 1998. 478 p.

GENCUIROVA, V.; HANUS, O.; BEBER, K.; KOPECKY, J.; HAVLICKOVA, K. Relationship between alcohol stability of cows milk and some components and factors of primary production. **Zivocisna Vyroba**, v.38, n.9, p.837-848, 1993.

GIELEN, M.; DUFRASNE, I.; LIMBOURG, P. Effect of grazing system, levels of concentrate and of nitrogen-fertilizer on urea concentration in milk and blood-plasma of dairy-cows. **Annales de Medecine Veterinaire**, v. 133, n. 7, p. 589-598, 1989.

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

HAMBLING, S. G.; MCALPINE, A. S.; SAWYER, L. Beta-lactoglobulin. In: FOX, P. F. (Ed.). **Advanced Dairy Chemistry**. London: Elsevier Applied Science, 1992. v.1, p.141-189.

HILL, J. P. The relationship between beta-lactoglobulin phenotypes and milk composition in New Zealand dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 1, p. 281-286, 1993.

HILL, J. P.; BOLAND, M. J.; CREAMER, L. K.; ANEMA, S. G.; OTTER, D. E.; PATERSON, G. R.; LOWE, R.; MOTION, R. L.; THRESHER, W. C. 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 technology**. Washington: American Chemical Society, 1996. v. 650, p.281-294. (ACS Symposium Series).

HILL, J. P.; THRESHER, W. C.; BOLAND, M. J.; CREAMER, L. K.; ANEMA, S. G.; MANDERSON, G.; OTTER, D. E.; PATERSON, G. R.; LOWE, R.; BURR, R. G.; MOTION, R. L.; WINKELMAN, A.; WICKHAM, B. The polymorphism of the milk protein beta-lactoglobulin. A review. In: WELCH, R. A. S.; BURNS, D. J. W.; DAVIS, S. R.; POPAY, A. Y.; PROSSER, C. G. (Ed.). **Milk composition, production and biotechnology**. London: CAB International, 1997. p.173-202..

HORNE, D. S.; MUIR, D. D. Alcohol and heat-stability of milk protein. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 12, p. 3613-3626, 1990.

IKONEN, T.; MORRI, S.; TYRISEVA, A. M.; RUOTTINEN, O.; OJALA, M. Genetic and phenotypic correlations between milk coagulation properties, milk production traits, somatic cell count, casein content, and pH of milk. **Journal of Dairy Science**, v.87, n.2, p.458-467, 2004.

IMAFIDON, G. I.; NG-KWAI-HANG, K. F.; HARWALKAR, V. R.; MA, C. Y. Effect of genetic polymorphism on the thermal stability of beta-lactoglobulin and kappa-casein mixture. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 6, p. 1791-1802, 1991.

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**, v. 81, n. 10, p. 2681-2692, 1998.

JONKER, J. S.; KOHN, R. A.; ERDMAN, R. A. Milk urea nitrogen target concentrations for lactating dairy cows fed according to National Research Council recommendations. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 6, p. 1261-1273, 1999.

JOST, R. Functional characteristics of dairy proteins. **Trends in Food Science & Technology**, v. 4, n. 9, p. 283-288, 1993.

KARATZAS, C. N.; TURNER, J. D. Toward altering milk composition by genetic manipulation: Current status and challenges. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 9, p. 2225-2232, 1997.

KAY, J. K.; WEBER, W. J.; MOORE, C. E.; BAUMAN, D. E.; HANSEN, L. B.; CHESTER-JONES, H.; CROOKER, B. A.; BAUMGARD, L. H. Effects of week of lactation and genetic selection for milk yield on milk fatty acid composition in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 11, p. 3886-3893, 2005.

- KONTOPIDIS, G.; HOLT, C.; SAWYER, L. Invited Review: beta-lactoglobulin: Binding properties, structure and function. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 4, p. 785-796, 2004.
- LACROIX, C.; VERRET, P.; PAQUIN, P. Regional and seasonal variations of nitrogen fractions in commingled milk. **International Dairy Journal**, v.6, n.10, p.947, 1996.
- LARSON, B. L. Biosynthesis and secretion of milk proteins - Review. **Journal of Dairy Research**, v. 46, n. 2, p. 161-174, 1979.
- LAW, A. J. R.; BANKS, J. M.; HORNE, D. S.; LEAVER, J.; WEST, I. G. Denaturation of the whey proteins in heated milk and their incorporation into cheddar cheese. **Milchwissenschaft**, v. 49, n. 2, p. 63-67, 1994.
- LAW, A. J. R.; HORNE, D. S.; BANKS, J. M.; LEAVER, J. Heat-induced changes in the whey proteins and caseins. **Milchwissenschaft**, v. 49, n. 3, p. 125-129, 1994.
- LAWRENCE, R. C. Relationship between milk protein genotypes and cheese capacity. In: EMMONS, D. B. (Ed.). **Factors affecting the yield of cheese**. Brussels, Belgium: IDF 997. p.145. (Bulletins, 1).
- LIMA, Y. V. R. **Variantes genéticas de kappa-caseína em vacas leiteiras e características físico-químicas e de composição do leite**. 2005. 84 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, 2005.
- LINDMARK-MANSSON, H.; FONDEN, R.; PETTERSSON, H. Composition of Swedish dairy milk. **International Dairy Journal**, v. 13, n. 6, p. 409-425, 2003.
- LITWINCZUK, A.; BARLOWSKA, J.; KROL, J.; LITWINCZUK, Z. Milk protein polymorphism as markers of production traits in dairy and meat cattle. **Medycyna Weterynaryjna**, v. 62, n. 1, p. 6-10, 2006.
- LODES, A.; BUCHBERGER, J.; KRAUSE, I.; AUMANN, J.; KLOSTERMEYER, H. The influence of genetic variants of milk proteins on the compositional and technological properties of milk: 3. Content of protein, casein, whey protein and casein number. **Milchwissenschaft**, v. 52, n. 1, p. 3-8, 1997.
- LOUIS, E. J.; DEMPSTER, E. R. An exact test for Hardy-Weinberg and multiple alleles. **Biometrics**, v. 43, n. 4, p. 805-811, 1987.
- LUNDEN, A.; NILSSON, M.; JANSON, L. Marked effect of beta-lactoglobulin polymorphism on the ratio of casein to total protein in milk. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 11, p. 2996-3005, 1997.
- LYNCH, J.; BARBANO, D.; FLEMING, J. R. Indirect and direct determination of the casein content of milk by Kjeldahl nitrogen analysis: Colaborativa study. **Journal of AOAC International**, v. 81, n. 4, p. 763-774, 1998.

- MACKLE, T. R.; BRYANT, A. M.; PETCH, S. F.; HILL, J. P.; AULDIST, M. J. Nutritional influences on the composition of milk from cows of different protein phenotypes in New Zealand. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 1, p. 172-180, 1999.
- MAHE, M. F.; MIRANDA, G.; QUEVAL, R.; BADO, A.; ZAFINDRAJAONA, P. S.; GROSCLAUDE, F. Genetic polymorphism of milk proteins in African *Bos taurus* and *Bos indicus* populations. Characterization of variants alpha  $s_1$ -casein H and kappa-casein J. **Genetics Selection Evolution**, v. 31, n. 3, p. 239-253, 1999.
- MARTINS, P. R. G.; SILVA, C. A.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M. E. R.; STUMPF, W.; ZANELA, M. B. Produção e qualidade do leite na bacia leiteira de Pelotas-RS em diferentes meses do ano. **Ciência Rural**, v. 36, n. 1, p. 209-214, 2006.
- MARZIALI, A. S. e NG-KWAI-HANG, K. F. Effects of milk composition and genetic polymorphism on cheese composition. **Journal of Dairy Science**, v.69, n.10, p.2533-2542, 1986.
- MCLEAN, D. M.; GRAHAM, E. R. B.; PONZONI, R. W.; MCKENZIE, H. A. Effects of milk protein genetic variants and composition on heat-stability of milk. **Journal of Dairy Research**, v. 54, n. 2, p. 219-235, 1987.
- MEDRANO, J. F.; AGUILARCORDEROVA, E. Genotyping of bovine kappa-casein *loci* following DNA sequence amplification. **Biotechnology**, v. 8, n. 2, p. 144-146, 1990.
- 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 genetic variants A and B of kappa-casein and beta-lactoglobulin (Part I). **International Journal of Dairy Technology**, v. 59, n. 3, p. 183-187, 2006.
- MORALES, F. J.; ROMERO, C.; JIMENEZ-PEREZ, S. Characterization of industrial processed milk by analysis of heat-induced changes. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 35, n. 2, p. 193-200, 2000.
- MORGAN, F.; MICAULT, S.; FAUQUANT, J. Combined effect of whey protein and alpha  $s_1$ -casein genotype on the heat stability of goat milk. **International Journal of Dairy Technology**, v. 54, n. 2, p. 64-68, 2001.
- NEI, M. **Molecular evolutionary genetics**. New York: Colombia University Press. 1987. 340 p.
- NEVES, A. L. G.; GUIMARAES, S. E. F.; LIMA, R. M. G.; PENNA, V. M.; PINHEIRO, L. E. L. Identification of A and B variants of the beta-lactoglobulin gene in Brazilian Gir populations. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v. 50, n. 4, p. 409-414, 1998.
- NG-KWAI-HANG, K. F. Genetic polymorphism of milk proteins. In: FOX, P. F. (Ed.). **Advanced dairy chemistry**.: Elsevier Applied Science, 1992. v.1, p. 405-442.



- NG-KWAI-HANG, K. F. **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. 22-37 p.
- NG-KWAI-HANG, K. F. Genetic polymorphism of milk proteins: Relationships with production traits, milk composition and technological properties. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 78, p. 131-147, 1998.
- NG-KWAI-HANG, K. F.; HAYES, J. F.; MOXLEY, J. E. Relationships between milk protein polymorphisms and major milk constituents in Holstein-Friesian cows. **Journal of Dairy Science**, v. 69, n. 1, p. 22-26, 1986.
- NG-KWAI-HANG, K. F.; MONARDES, H. G.; HAYES, J. F. Association between genetic polymorphism of milk proteins and production traits during three lactations. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 12, p. 3414-3420, 1990.
- NG-KWAI-HANG, K. F.; OTTER, D. E.; LOWE, E.; BOLAND, M. J.; AULDIST, M. J. Influence of genetic variants of beta-lactoglobulin on milk composition and size of casein micelles. **Milchwissenschaft**, v. 57, n. 6, p. 303-306, 2002.
- O'BRIEN, B.; DILLON, P.; MURPHY, J. J.; MEHRA, R. K.; GUINEE, T. P.; CONNOLLY, J. F.; KELLY, A.; JOYCE, P. Effects of stocking density and concentrate supplementation of grazing dairy cows on milk production, composition and processing characteristics. **Journal of Dairy Research**, v.66, p.165-176, 1999.
- O'CONNELL, J. E.; KELLY, A. L.; FOX, P. F.; DE KRUIF, K. G. Mechanism for the ethanol-dependent heat-induced dissociation of casein micelles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 9, p. 4424-4428, 2001.
- OJALA, M.; FAMULA, T. R.; MEDRANO, J. F. Effects of milk protein genotypes on the variation for milk production traits of Holstein and Jersey cows in California. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 8, p. 1776-1785, 1997.
- OLIVEIRA, D. S.; TIMM, C. D. Composição do leite com instabilidade da caseína. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 259-263, 2006.
- ONER, Y.; ELMACI, C. Milk protein polymorphisms in Holstein cattle. **International Journal of Dairy Technology**, v. 59, n. 3, p. 180-182, 2006.
- PAQUIN, P.; LACROIX, C. **Seasonal and regional variations of different milk protein fractions: a survey of Quebec milk.** Protein Definition. Minneapolis, USA: International Dairy Federation, 1994. p. 32-39.
- PATERSON, G. R.; MACGIBBON, A. K. H.; HILL, J. P. Influence of kappa-casein and beta-lactoglobulin phenotype on the heat stability of milk. **International Dairy Journal**, v. 9, n. 3-6, p. 375-376, 1999.
- PEREIRA, D. B. C. P.; SILVA, P. H. F.; COSTA JR, L. C. G.; OLIVEIRA, L. L. **Físico-química do leite e derivados - métodos analíticos.** Juiz de Fora-MG: EPAMIG, 2001. 234 p.

PIMENTEL GOMES, F. **Curso de Estatística Experimental**. Piracicaba, SP: ESALQ. 1985. 467 p.

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

PONCE, P. C.; HERNÁNDEZ, R. Propriedades físicoquímicas do leite e sua associação com transtornos metabólicos e alterações na glândula mamária. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; DÜRR, J.W.; FONTANELI, R.S. (Ed.). **Uso do leite para monitorar a nutrição e metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: UFRGS, 2001. p. 58-68.

RIBAS, N. P. **Programa de análise de rebanhos leiteiros**. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 1., 1998, Curitiba, p. 58-67.

ROBITAILLE, G. Influence of kappa-casein and beta-lactoglobulin genetic variation on the heat stability of milk. **Journal of Dairy Research**, v. 62, n. 4, p. 593-600, 1995.

ROBITAILLE, G.; AYERS, C. Effects of kappa-casein glycosylation on heat stability of milk. **Food Research International**, v. 28, n. 1, p. 17-21, 1995.

ROBITAILLE, G.; BRITTEN, M.; MORISSET, J.; PETITCLERC, D. Quantitative analysis of beta-lactoglobulin A and B genetic variants in milk of cows beta-lactoglobulin AB throughout lactation. **Journal of Dairy Research**, v. 69, n. 4, p. 651-654, 2002.

ROTHSCHILD, M. F.; SOLLER, M. Candidate gene analysis to detect genes controlling traits of economic importance in domestic livestock. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ANIMAL BREEDING AND GENETICS, 1999, Viçosa, p. 219-242.

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**, v. 81, n. 1, p. 215-220, 1998.

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

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**, v. 36, n. 3, p. 167-178, 1998.

SAS. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. **SAS user's guide: statistics**. Cary, NC 1998.

SCHUKKEN, Y. H.; FULTON, C. D.; LESLIE, K. E. Freezing-point of bulk milk in Ontario - An observational study. **Journal of Food Protection**, v. 55, n. 12, p. 995-998, 1992.

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

- SILVA, P. H. F.; ALMEIDA, M. C. F. Estabilidade térmica do leite: Instituto de Laticínios Cândido Tostes. 1998. Disponível em: <<http://www.atruius.com.br/download/estab.%20%E9rmica%20%.%20artigo.doc>>. Acesso em: 25 agosto de 2006.
- SINGH, H. Heat stability of milk. **International Journal of Dairy Technology**, v. 57, n. 2-3, p. 111-119, 2004.
- TEIXEIRA, N. M.; FREITAS, A. F.; BARRA, R. B. Environmental factors influencing monthly variation of milk composition and somatic cell counts in herds of the State of Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, n. 4, p. 491-499, 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**, v. 82, n. 9, p. 1950-1959, 1999.
- VAN EENENNAAM, A.; MEDRANO, J. F. Milk protein polymorphisms in California dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 5, p. 1730-1742, 1991.
- VERNEQUE, R. S.; MARTINEZ, M. L.; BRITO, J. R. F.; TEODORO, R. L.; SILVA, M. V.; PEIXOTO, M. G. Constituintes do leite nas raças Gir e Guzerá leiteiras. In: CARVALHO, L. A.; ZOCCAL, R. MARTINS, M.C.; ARCURI, P.B.; MOREIRA, M.S. (Ed.). **Tecnologia e gestão na atividade leiteira**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2005. p. 323.
- WALKER, G. P.; DUNSHEA, 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**, v. 55, n. 10, p. 1009-1028, 2004.
- WILKINS, R. J.; KUYS, Y. M. Rapid beta-lactoglobulin genotyping of cattle using the polymerase chain reaction. **Animal Genetics**, v. 23, n. 2, p. 175-178, 1992.
- ZANELA, M. B.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M. E. R.; BARBOSA, R. S.; MARQUES, L. T.; STUMPF, W.; ZANELA, C. Leite instável não-ácido e composição do leite de vacas Jersey sob restrição alimentar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 5, p. 835-840, 2006a.
- ZANELA, M. B.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M. E. R.; STUMPF, W.; ZANELA, C.; MARQUES, L. T.; MARTINS, P. R. G. Qualidade do leite em sistemas de produção na região Sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 1, p. 153-159, 2006b.

## APÊNDICES

APÊNDICE A - Efeito do polimorfismo genético de  $\beta$ -lactoglobulina sobre as características físico-químicas e de composição do leite

Variável	Genótipo da $\beta$ -lactoglobulina						P
	N	AA	N	AB	N	BB	
Acidez titulável	248	16,331	283	16,551	389	16,442	0,166
pH	224	6,785	276	6,772	374	6,778	0,505
Crioscopia	233	-0,5401	275	-0,5394	367	-0,5400	0,318
Gordura (%)	238	3,269	282	3,269	381	3,295	0,925
Lactose (%)	244	4,445	290	4,440	386	4,448	0,84
Sólidos totais (%)	241	11,771	282	11,818	382	11,835	0,949
LogCCS	253	2,347	298	2,358	402	2,424	0,157
Uréia (mg/dL)	249	15,964	293	16,066	390	15,862	0,843
Proteína Bruta (%)	232	3,147	271	3,117	366	3,114	0,223
PV (%)	217	2,924	263	2,895	343	2,882	0,206
Caseína (%)	198	2,128	240	2,096	323	2,087	0,19
Relação caseína/PV	198	0,726	240	0,721	323	0,721	0,275

APÊNDICE B - Efeito do polimorfismo genético de  $\beta$ -lactoglobulina nas raças Holandesa e Girolanda sobre as características físico-químicas e de composição do leite

Variável	Holandesa						P	Girolanda						P
	N	AA	N	AB	N	BB		N	AA	N	AB	N	BB	
Dornic (°D)	191	16,08	187	16,31	257	16,10	0,191	57	17,14	96	17,01	132	17,09	0,833
pH	166	6,794	172	6,7867	243	6,7865	0,958	58	6,756	104	6,747	131	6,762	0,557
Crioscopia (°H)	178	-0,5408	176	-0,5393	243	-0,5402	0,621	55	-0,5378	99	-0,5394	124	-0,5393	0,256
Gordura (%)	185	3,305	182	3,266	255	3,358	0,988	53	3,143	100	3,273	126	3,164	0,281
Lactose (%)	188	4,4438	186	4,428	254	4,4433	0,879	56	4,447	104	4,459	132	4,458	0,803
Sólidos totais (%)	185	11,823	183	11,822	253	11,876	0,972	56	11,594	99	11,807	129	11,754	0,428
Log CCS	194	2,30	193	2,40	267	2,41	0,139	59	2,50	105	2,28	135	2,44	0,058
Proteína Bruta (%)	180	3,153	178	3,151	245	3,136	0,392	54	3,178	95	3,080	124	3,099	0,356
Uréia (mg/dL)	190	16,57	192	16,82	261	16,52	0,818	59	14,00	101	14,62	129	14,51	0,476
PV (%)	180	2,93	176	2,92	238	2,90	0,308	49	2,95	93	2,86	115	2,87	0,367
Caseína (%)	166	2,135	160	2,118	229	2,110	0,588	43	2,160	86	2,081	105	2,080	0,262
Relação caseína/PV	166	0,724	160	0,721	228	0,722	0,968	43	0,731	86	0,721	105	0,720	0,294

APÊNDICE C – Médias, erros-padrão e número de amostras de leite analisadas para as características físico-químicas e de composição em relação à estabilidade frente à prova do álcool

Variável	Instáveis			Estáveis			P
	Média	EPM	N	Média	EPM	N	
Dornic (°D)	16,22	0,078	644	16,97	0,119	276	0,001
pH	6,79	0,005	609	6,75	0,007	265	0,002
Crioscopia (°H)	-0,5397	0,0003	605	-0,5400	0,0005	270	0,813
Gordura (%)	3,26	0,03	631	3,32	0,045	270	0,112
Lactose (%)	4,44	0,01	637	4,46	0,014	283	0,023
Sólidos totais (%)	11,79	0,036	629	11,87	0,055	276	0,009
LogCCS	2,41	0,026	660	2,32	0,036	293	0,035
Uréia (mg/dL)	16,01	0,169	642	15,83	0,265	290	0,289
Proteína Bruta (%)	3,13	0,011	608	3,12	0,017	261	0,582
PV (%)	2,9	0,012	574	2,9	0,018	249	0,661
Caseína (%)	2,11	0,013	532	2,09	0,019	229	0,396
Relação caseína/PV	0,724	0,002	532	0,719	0,003	229	0,235

APÊNDICE D– Médias e número de amostras analisadas para as características físico-químicas e de composição de leite dos genótipos AA, AB e BB da  $\beta$ -lactoglobulina, em relação a estabilidade frente à prova do álcool

Variável	Instáveis						P	Estáveis						P
	N	AA	N	AB	N	BB		N	AA	N	AB	N	BB	
Domic (°D)	69	16,67	97	16,91	110	17,21	0,564	179	16,2	186	16,37	279	16,14	0,073
pH	60	6,76	99	6,75	106	6,75	0,725	164	6,79	177	6,78	268	6,79	0,472
Crioscopia (°H)	67	-0,54	100	-0,5392	103	-0,5409	0,512	166	-0,5402	175	-0,5395	264	-0,5396	0,485
Gordura (%)	64	3,4	97	3,31	109	3,28	0,468	174	3,22	185	3,25	272	3,3	0,861
Lactose (%)	68	4,44	105	4,45	110	4,49	0,263	176	4,45	185	4,43	276	4,43	0,538
Sólidos totais (%)	67	11,82	99	11,92	110	11,86	0,169	174	11,75	183	11,76	272	11,82	0,957
Log CCS	72	2,27	106	2,35	115	2,32	0,899	181	2,38	192	2,36	287	2,47	0,325
Uréia (mg/dL)	72	15,73	105	15,5	113	16,21	0,466	177	16,06	188	16,38	277	15,72	0,509
Proteína Bruta (%)	66	3,14	92	3,11	103	3,12	0,221	166	3,15	179	3,12	263	3,11	0,524
PV (%)	63	2,91	88	2,9	98	2,89	0,269	154	2,93	175	2,89	245	2,88	0,387
Caseína (%)	57	2,1	79	2,07	93	2,09	0,419	141	2,14	161	2,11	230	2,09	0,381
Relação caseína/PV	57	0,72	79	0,71	93	0,72	0,831	141	0,73	161	0,72	230	0,72	0,443



APÊNDICE E – Médias, erros-padrão e número de amostras analisadas para as características físico-químicas e de composição de leite das raças Holandesa e Girolanda, em relação à estabilidade frente à prova do álcool

Variável	Holandesa						P	Girolanda						P
	Instáveis			Estáveis				Instáveis			Estáveis			
	N	Média	EPM	N	Média	EPM		N	Média	EPM	N	Média	EPM	
Dornic (°D)	150	16,52	0,162	485	16,05	0,09	0,112	126	17,5	0,164	159	16,74	0,151	0,003
pH	130	6,77	0,009	451	6,79	0,005	0,14	135	6,74	0,01	158	6,77	0,008	0,084
Crioscopia (°H)	142	-0,5402	0,001	455	-0,5402	0,0004	0,442	128	-0,5399	0,001	150	-0,5384	0,0007	0,149
Gordura (%)	146	3,39	0,059	476	3,29	0,034	0,056	124	3,23	0,067	155	3,18	0,063	0,368
Lactose (%)	149	4,43	0,018	479	4,44	0,012	0,943	134	4,51	0,021	158	4,42	0,019	0,016
Sólidos totais (%)	146	11,93	0,072	475	11,82	0,041	0,102	130	11,81	0,085	154	11,68	0,077	0,045
LogCCS	156	2,29	0,05	498	2,4	0,029	0,398	137	2,35	0,053	162	2,44	0,055	0,083
Uréia (mg/dL)	156	16,26	0,312	487	16,75	0,182	0,039	134	15,34	0,441	155	13,69	0,342	0,029
Proteína Bruta (%)	136	3,12	0,022	463	3,14	0,013	0,15	125	3,12	0,025	145	3,07	0,024	0,136
PV (%)	132	2,89	0,024	443	2,91	0,013	0,124	117	2,9	0,026	131	2,84	0,026	0,102
Caseína (%)	121	2,07	0,026	414	2,12	0,014	0,05	108	2,1	0,028	118	2,06	0,028	0,191
Relação caseína/PV	121	0,72	0,004	414	0,72	0,002	0,035	108	0,72	0,004	118	0,72	0,004	0,562

APÊNDICE F - Médias, erros-padrão e número de amostras analisadas para as características físico-químicas e de composição de leite nas estações chuvosa e seca, em relação à estabilidade frente à prova do álcool

Variável	Chuva						P	Seca						P
	Instáveis			Estáveis				Instáveis			Estáveis			
	N	Média	EPM	N	Média	EPM		N	Média	EPM	N	Média	EPM	
Dornic (°D)	89	17,11	0,203	254	16,45	0,12	0,052	187	16,9	0,147	390	16,07	0,103	0,001
pH	87	6,78	0,011	251	6,8	0,006	0,006	178	6,74	0,009	358	6,78	0,006	0,064
Crioscopia (°H)	86	-0,5379	0,001	237	-0,5375	0,0005	0,626	184	-0,5411	0,001	368	-0,5412	0,0004	0,659
Gordura (%)	85	3,3	0,085	251	3,24	0,049	0,543	185	3,33	0,052	380	3,28	0,038	0,135
Lactose (%)	89	4,34	0,023	250	4,35	0,015	0,836	194	4,52	0,016	387	4,49	0,012	0,052
Sólidos totais (%)	85	11,76	0,108	252	11,62	0,06	0,211	191	11,92	0,064	377	11,89	0,045	0,033
LogCCS	90	2,41	0,06	258	2,46	0,039	0,411	203	2,28	0,045	402	2,38	0,034	0,081
Uréia (mg/dL)	90	15,32	0,513	244	16,49	0,33	0,094	200	16,07	0,307	398	15,71	0,181	0,826
Proteína Bruta (%)	67	3,1	0,033	225	3,08	0,019	0,378	194	3,13	0,02	383	3,15	0,014	0,183
PV (%)	56	2,88	0,037	192	2,84	0,021	0,428	193	2,9	0,02	382	2,93	0,014	0,225
Caseína (%)	41	2,02	0,045	156	2,01	0,025	0,569	188	2,1	0,021	376	2,15	0,015	0,078
Relação caseína/PV	41	0,7	0,007	156	0,71	0,004	0,925	188	0,72	0,003	376	0,73	0,002	0,025

## APÊNDICE G - ARTIGOS SUBMETIDOS PARA PUBLICAÇÃO

**Revista Científica:** Pesquisa Agropecuária Brasileira ISSN: 0100-204X

**Classificação da revista de acordo com a CAPES:** A

**Circulação:** Internacional

**Efeito do polimorfismo da  $\beta$ -lactoglobulina sobre as características físico-químicas e de estabilidade do leite.**

**Autores:** Botaro, B. G.; Lima, Y. V. R.; Aquino, A. A.; Fernandes, R. H. R.; Garcia, J. F.; Santos, M. V.

**Resumo:** O presente estudo teve como objetivo avaliar a associação entre o polimorfismo da  $\beta$ -lactoglobulina e as características físico-químicas (pH, acidez e crioscopia) e de estabilidade do leite. Para tanto, 11 rebanhos leiteiros foram selecionados, 5 da raça Holandesa e 6 da raça Girolanda, dos quais foram coletadas 4 amostras de leite de 164 vacas Holandesas e 74 Girolandas, sendo duas coletas realizadas na estação seca e 2 na estação chuvosa. Cada amostra foi submetida à análise de acidez titulável, pH e crioscopia. A estabilidade do leite foi avaliada pelo teste de estabilidade ao etanol, com as seguintes concentrações alcoólicas: 70, 76, 80 e 84°GL. Para a identificação do genótipo para  $\beta$ -lactoglobulina, foram coletados 10 mL de sangue da circulação periférica de cada vaca e submetidos à reação de polimerase em cadeia (PCR), determinando-se as frequências alélicas e genotípicas dos animais. As frequências genotípicas foram 0,28, 0,30 e 0,41 para os genótipos AA, AB e BB da  $\beta$ -lactoglobulina, respectivamente. A frequência do alelo B foi maior que do alelo A, 0,52 e 0,47, para a raça Holandesa, e 0,58 e 0,41, para a raça Girolanda, respectivamente. Não houve efeito do polimorfismo da  $\beta$ -lactoglobulina entre os animais das raças avaliadas sobre as propriedades físico-químicas do leite. Observou-se efeito de raça (Holandesa e Girolanda, respectivamente) sobre as características físico-químicas de acidez titulável (16,16 e 17,07°D) e pH (6,78 e 6,75) e da estação do ano (chuvosa e seca, respectivamente) sobre as características físico-químicas de acidez titulável (16,62 e 16,34°D), pH (6,76 e 6,79) e crioscopia (-0,5411 e -0,5376°H). Em relação a estabilidade do leite frente a prova do álcool, verificou-se efeito da raça e estação do ano sobre a estabilidade do leite, sendo que o leite é mais instável na raça Girolanda e na estação seca, mas não se observou efeito do polimorfismo da  $\beta$ -lactoglobulina sobre esta característica.

**Palavras-chave:** vaca-leiteira, características físico-químicas, estabilidade do leite,  $\beta$ -lactoglobulina

**Revista Científica:** Pesquisa Agropecuária Brasileira ISSN: 0100-204X

**Classificação da revista de acordo com a CAPES:** A

**Circulação:** Internacional

**Efeito do polimorfismo da  $\beta$ -lactoglobulina sobre a composição do leite.**

**Autores:** Botaro, B. G.; Lima, Y. V. R.; Garcia, J. F.; Fernandes, R. H. R.; Santos, M. V.

**Resumo:** O presente estudo teve como objetivo avaliar a associação entre o polimorfismo da beta-lactoglobulina e as características de composição do leite de vacas leiteiras (gordura, sólidos totais, uréia, proteína bruta, proteína verdadeira, nitrogênio não-protéico e caseína). Para tanto, 11 rebanhos leiteiros foram selecionados, 5 da raça Holandesa e 6 da raça Girolanda, dos quais foram coletadas 4 amostras de leite de 164 vacas da raça Holandesa e 74 da raça Girolanda, sendo duas coletas realizadas na estação de secas e 2 na estação de chuvas. Cada amostra de leite foi submetida à análise de composição e para a identificação do genótipo para beta-lactoglobulina, foram coletadas amostras de sangue de cada vaca e submetidos à reação de polimerase em cadeia (PCR), determinando-se as frequências alélicas e genotípicas dos animais. As frequências genotípicas foram 0,28, 0,30 e 0,41 para os genótipos AA, AB e BB, respectivamente. A frequência do alelo B foi maior que do alelo A, 0,52 e 0,47, para a raça Holandesa, e 0,58 e 0,41, para a raça Girolanda, respectivamente. Não houve efeito do polimorfismo da beta-lactoglobulina (AA, AB e BB) entre os animais das raças avaliadas sobre as características de composição do leite. Observou-se efeito de raça (Holandesa e Girolanda, respectivamente) sobre a composição do leite quanto as variáveis gordura (3,31 e 3,20%), NUL (16,62 e 14,45mg/dL) e PB (3,13 e 3,04%), e da estação do ano (chuvosa e seca, respectivamente) sobre as variáveis lactose (4,34 e 4,50%), sólidos totais (11,65 e 11,90%), LogCCS (2,44 e 2,34), PB (3,08 e 3,14%), PV (2,84 e 2,91%), caseína (2,01 e 2,13%) e relação caseína:proteína verdadeira (0,70 e 0,72).

**Palavras-chave:** vaca-leiteira, composição do leite, sazonalidade, proteína,  $\beta$ -lactoglobulina

# 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](#)