

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E CONTAGENS DE CÉLULAS  
SOMÁTICAS E BACTERIANA TOTAL NO LEITE DE ÉGUAS DA  
RAÇA MANGALARGA MARCHADOR**

Aline de Paula Reis  
Orientador: Prof. Dr. Edmar Soares Nicolau

GOIÂNIA  
2006

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

ALLINE DE PAULA REIS

**QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E CONTAGEM DE CÉLULAS  
SOMÁTICAS E CONTAGEM BACTERIANA TOTAL NO LEITE DE  
ÉGUAS MANGALARGA MARCHADOR**

Dissertação apresentada para obtenção  
do grau de Mestre em Ciência Animal  
junto à Escola de Veterinária da  
Universidade Federal de Goiás.

**Área de Concentração:**

Sanidade Animal

**Orientador:**

Prof. Dr. Edmar Soares Nicolau

**Comitê de Orientação:**

Prof. Dr. Moacir Evandro Lage

Prof. Dr. Antônio Nonato de Oliveira

Profa. Dra. Pascale Chavatte-Palmer

GOIÂNIA

2006

Dedico este trabalho a todos aqueles que me ajudaram, apoiaram e incentivaram até este momento e a todos os que possam se beneficiar deste resultado de alguma forma.

## AGRADECIMENTOS

Todo agradecimento é pequeno diante da imensidão de apoios, favores, paciências e oportunidades que o mundo me oferece a cada dia. Neste momento lembro-me carinhosamente das pessoas, instituições e animais que passaram pela minha vida e cito, por questões didáticas, em ordem cronológica, apenas os que estão intimamente relacionados com este trabalho. Sendo assim agradeço:

Em primeiro lugar a Deus e aos meus pais que me deram vida, saúde, inteligência e um destino de traçado fácil e gostoso para seguir.

À espécie eqüina por ser um amor que cultivo desde a infância, sempre tão cordial e generosa comigo, além de ser a razão da realização deste trabalho.

Ao professor Francisco de Carvalho Dias Filho por ter sempre incentivado os meus estudos, sugerindo-me incansavelmente o curso de mestrado.

Ao professor Albenones José de Mesquita por ter acreditado, desde o início, na idéia de sair da rotina e trabalhar com leite de égua e ter oferecido todo o suporte intelectual e de infra-estrutura para a realização deste trabalho.

Ao professor Edmar Soares Nicolau por ter aceitado e se empenhado profundamente em apoiar e orientar a aluna que bateu à sua porta com um objeto de pesquisa totalmente diferente de seu trabalho rotineiro.

Ao CPA e ao CNPq pelo apoio de infra-estrutura e financeiro a este trabalho.

Aos laboratoristas Winder Macusuel Borges de Oliveira e Rodrigo Almeida de Oliveira por terem pacientemente ensinado e re-ensinado, sempre que necessário, a realização de cada análise físico-química.

À equipe do LQL / CPA, o médico veterinário Rodrigo Balduino Soares Neves e a acadêmica Silmara Damaso Fernandes, por ter realizado as análises eletrônicas com tanta disposição e carinho.

À Equipe do Laboratório de Microbiologia / CPA, a bióloga Sandra Queiroz Porto Mesquita e a engenheira de alimentos Rosângela Nunes Carvalho, que sempre apoiou nas questões microbiológicas encontradas no decorrer do estudo.

À Equipe de limpeza e esterilização do CPA, Neusa Dias, Eusa dos Reis e Tatiana Evaristo Parreira, que ofereceu auxílio valiosíssimo.

Aos queridos estagiários, Kamilla Rezende de Pinheiro Santos, Fábio Henrique de Oliveira, Edmêe Aparecida Fleury Curado, Iara Barbacena Maciel e Carlos

Henrique Gonçalves Moreira que me suportaram com toda a minha intempestividade e autoridade. Que sempre realizaram um trabalho fantástico, preciso, perderam férias, aulas e noites em nome da pesquisa. Parabéns, sigam em frente com esta mesma determinação. Vocês estão no meu coração.

Ao estatístico Jaison Pereira de Oliveira que possibilitou essa defesa em tempo recorde.

Ao professor Luis Antônio Franco da Silva, demais professores da EV que me apoiaram em outras situações não menos importantes desta caminhada.

Às amigas e colegas de pós-graduação Ediane Batista, Marcele Louise Tadaiesky Arruda, Karyne Oliveira Coelho e Priscila Alonso dos Santos que estiveram sempre próximas nas horas mais importantes e foram também muito importantes para este trabalho.

O leite de égua fermentado, junto com algumas ervas medicinais naturais fazem o koumys – tão importante para a cultura mongol quanto o chá e muito mais amplamente bebido do que a Coca

Brian Goddard

## SUMARIO

1 INTRODUÇÃO	01
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	03
2.1 O leite	03
2.2 Capacidade produtiva de éguas	04
2.3 Formas de utilização do leite equino	05
2.3.1 Utilização pelo potro	05
2.3.2 Utilização pelo homem	06
2.4 Situação atual do mercado do leite equino	07
2.5 Variáveis utilizadas para aferição da qualidade do leite	11
2.5.1 Composição	12
2.5.1.1 Proteína	12
2.5.1.2 Gordura	15
2.5.1.3 Lactose	17
2.5.1.4 Extrato seco total (EST) e extrato seco desengordurado (ESD)	18
2.5.2 Físico-química	19
2.5.2.1 Densidade	19
2.5.2.2 Índice crioscópico	21
2.5.2.3 Acidez e ph	21
2.5.3 Qualidade sanitária	22
2.5.3.1 Contagem de células somáticas (ccs)	23
2.5.3.2 Contagem bacteriana total	28
3 OBJETIVOS	30
3.1 Objetivo geral	30
3.2 Objetivos específicos	30
4 METODOLOGIA E ESTRATÉGIA DE AÇÃO	31
4.1 Situação dos animais e haras	31
4.2 Apartação dos potros para a colheita de amostras	32
4.3 Preparação para a colheita de amostras	32
4.4 Freqüência e prática de ordenhas	33
4.5 Preparo e transporte das amostras	33
4.6 Análises laboratoriais	33
4.6.1 Contagem celular somática (ccs) por citometria de fluxo	33
4.6.2 Composição pelo método do infravermelho próximo	34
4.6.3 Contagem bacteriana total pelo método de citometria de fluxo	35
4.6.4 Densidade a 15°C	36
4.6.5 Depressão do ponto de congelamento do leite pelo crioscópio eletrônico	37
4.6.6 Determinação do pH	37
4.6.7 Acidez titulável	37
4.7 Delineamento estatístico	38
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
5.1 Resultados de composição, CCS e CBT	39
5.2 Físico-química	54
6 CONCLUSÃO	61
7 REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	62

## LISTAS DE QUADROS / TABELAS.

QUADRO I: QUADRO I: Preços praticados na União Européia para o leite e produtos lácteos equinos.....	10
QUADRO II: Níveis de proteína e gordura – em percentagem - encontrados no leite eqüino por diversos autores, em diversas raças.....	13
QUADRO III: Densidade do leite de éguas Árabe e Quarto de Milha em Michigan, EUA, 1966.....	20
QUADRO IV: Comparação da contagem celular somática e período de observação, bem como a metodologia utilizada, em diversos estudos do leite eqüino.....	26
TABELA 1. Análise de variância das variáveis proteína (PRO), lactose (LAC), gordura (GOR), extrato seco total (EST), extrato seco desengordurado (ESD), contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) medidas, pela metodologia eletrônica, a partir de leite de éguas Mangalarga Marchador oriundas de quatro diferentes haras localizados no raio de 120km de distância de Goiânia.....	39
TABELA 2. Médias das variáveis proteína (PRO), lactose (LAC), gordura (GOR), extrato seco total (EST), extrato seco desengordurado (ESD), contagem de células somáticas (CCS) e bacteriana total (CBT) de leite de éguas Mangalarga Marchador de quatro diferentes haras localizados no raio de 120km de distância de Goiânia.....	43
TABELA 3. Comparação entre os resultados analíticos médios de leite de éguas Mangalarga Marchador para as variáveis de composição - proteína (PRO), lactose (LAC), gordura (GOR), extrato seco total (EST) e extrato seco desengordurado (ESD) – e variáveis de qualidade biológica do leite – contagem celular somática (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) – Goiânia – GO, 2005.....	47
TABELA 4. Médias individuais das variáveis proteína (PRO), lactose (LAC), gordura (GOR), extrato seco total (EST), extrato seco desengordurado (ESD), contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) de leite de éguas Mangalarga Marchador , Goiania – GO, 2005.....	48
TABELA 5. Análise de variância das variáveis físico-químicas densidade	

(DEN), crioscopia (CRI), pH (pH) e acidez (ACI) de leite de éguas Mangalarga Marchador, Goiânia, GO, 2005.....	54
TABELA 6: Médias das variáveis físico-químicas densidade (DEN), crioscopia (CRI), pH (PH), acidez (ACI), em leite de éguas Mangalarga Marchador de quatro haras, Goiânia, GO, 2005.....	56
TABELA 7: Comparação entre as variáveis físico-químicas – densidade (DEN), índice crioscópico (CRI) pH (pH) e acidez (ACI) do leite de éguas Mangalarga Marchador. Goiânia – GO, 2005.....	57
TABELA 8: Médias das variáveis físico-químicas – densidade (DEN), índice crioscópico (CRI) pH (pH) e acidez (ACI) em leite de éguas Mangalarga Marchador. Goiânia, GO, 2005.....	59

## RESUMO

O leite de égua possui funções terapêuticas e por isso tem-se incentivado sua utilização na nutrição humana, principalmente para crianças, devido à sua proximidade ao leite materno. Além disso, representa o principal alimento para o potro nos primeiros meses de vida. Todos estes fatores levam à necessidade de realizar estudos sobre a sua qualidade físico-química e sanitária. A raça Mangalarga Marchador é genuinamente brasileira e de grande expressão na Indústria do cavalo nacional, entretanto existem poucos estudos sobre a qualidade de seu leite, por isso o objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade físico-química, e as contagens celular somática e bacteriana total no decorrer da lactação e fornecer dados que possam suprir futuros estudos sobre a qualidade e utilização deste leite tanto para o homem quanto para o potro. Foram utilizadas 31 éguas oriundas de quatro haras localizados num raio de 120km de Goiânia - Goiás, as quais foram ordenhadas quinzenalmente, a partir do 15<sup>o</sup> dia de pós parto até 120 dias. As ordenhas eram realizadas após higienização completa de mãos e braços do ordenhador e tetos das éguas com álcool 70°GL. Após ordenha completa o leite era homogeneizado, as amostras preparadas em recipientes apropriados e enviadas para o CPA/EV/UFG onde eram analisadas quanto à concentração de proteína, gordura, lactose, extrato seco total e desengordurado, além de contagens celular somática e bacteriana total, densidade, crioscopia, acidez e pH. Os resultados encontrados permitem concluir que o leite de éguas da raça Mangalarga Marchador apresentam composição próxima à composição do leite das demais raças de equídeos e possui composição e qualidade sanitária que estimulam a sua utilização para o consumo humano. As metodologias da citometria de fluxo e do infravermelho próximo empregadas na realização das análises de composição, CCS e CBT do leite equino foram satisfatórias, entretanto, torna-se importante uma prévia calibração dos equipamentos com o intuito de obter menor variação entre resultados das diversas amostras.

Palavras-chave: composição, contagem de células somáticas, contagem bacteriana total, égua, leite.

## ABSTRACT

The mares milk have therapeutic functions and for this reason its utilization by human consumers has been encouraged, mainly for children, because of its proximity to the human milk. Moreover, it represents the essential food for the foal during the first months of life. All these reasons drive us to study, more and more, its composition and physical- chemical and sanitary qualities. Mangalarga Marchador is a genuine brazilian breed of big expression in the National Horse Industry but few studies have been done about its milk. The aim of this work was to evaluate the physical-chemical proprieties, the total bacterial counting and the somatic cells counting of this milk during one lactation period in order to provide data that could support future studies about the mare's milk and its possible human and foal utilizations. Were used 31 mares, natural of four studs distant from Goiânia in about 120km. they were milked each 15 days, from 15 days on and until 120 days of lactation. The milking were realized after complete cleaning of the worker's hands and arms and the mare's teats with 70GL alcohol. After the complete milking the milk was homogenized, samples were prepared in appropriated recipients and sent to CPA/EV/UFG where these would be stocked and analyzed for: protein, fat, lactose, total solids and solids fat free contents and for the total bacterial counting and somatic cells counting. The results found show that Mangalarga Marchador mares have compositional and sanitary qualities similar to other races. The CCS of normal, mature milk was under 1,0 de  $1,0 \times 10^5$  cél./mL and can be influenced by stress. Flow citometry and near infrared results were satisfactory to evaluate mare's milk but a previous calibration for mare milk is important to reduce variations among samples.

Key words: composition, mare, milk, somatic cell counting, total bacterial counting.

## 1 INTRODUÇÃO

A utilização do leite de égua como alimento humano constitui uma oportunidade real para aumentar os rendimentos de um haras. Isto já acontece na Europa, onde a movimentação comercial denominada “indústria do cavalo” aproveita todas as possibilidades de exploração deste animal. Devido aos diversos estudos que comprovam a sua eficácia como agente curativo de doenças metabólicas e alérgicas, este produto vem se tornando muito valorizado e importante para a economia de haras europeus.

Em países como a França e Alemanha, a sua utilização comercial é destinada principalmente à alimentação de crianças recém-nascidas e pré-maturas, principalmente devido ao equilíbrio albumina-globulina, bastante semelhante ao do leite humano. Novas pesquisas têm sido realizadas também no intuito de viabilizar o seu uso como alimento funcional em hepatopatias e úlceras gástricas e os resultados têm sido favoráveis.

No Brasil, as consecutivas crises econômicas, a crescente mecanização da agricultura, além da não popularização dos esportes hípicas levaram à grande redução da importância da equinocultura fazendo com que os haras brasileiros vivam em constantes crises financeiras. A comercialização do leite de égua, de forma racional e higiênica, pode representar um importante incremento na receita dos haras brasileiros.

Entretanto, até os dias atuais, a exploração do leite equino tem sido ignorada por parte dos criadores e continua praticamente inexplorada, apesar da gama de utilizações comerciais que lhe podem ser conferidas, além de sua grande importância para o desenvolvimento do potro.

Para viabilizar a comercialização, bem como a melhor exploração zootécnica deste produto, torna-se necessário o estudo aprofundado de sua qualidade. Estes estudos ainda se apresentam tímidos no país, apesar de já serem encontrados alguns na literatura, principalmente, voltados para a nutrição do potro. Estes trabalhos direcionados aos potros também são de suma importância pois a principal fase do seu desenvolvimento ocorre nos dois primeiros meses de vida e o leite é o principal alimento neste período, sendo

muitas vezes, irreparáveis as perdas ocorridas, caso este alimento não seja fornecido em quantidade e qualidade adequadas.

Os principais parâmetros analisados em busca de determinar sua qualidade são os físico-químicos como os níveis de proteína, lactose, gordura, extrato seco total e desengordurado, acidez, pH, níveis de minerais, crioscopia e densidade. Além desses parâmetros básicos, utilizou-se ainda a contagem de células somáticas (CCS), empregada para verificar a presença de mastite; e a contagem bacteriana total (CBT) para avaliar o nível de contaminação do leite, principalmente no que diz respeito à higiene de ordenha.

Estes dois últimos parâmetros ainda são pouco relatados para o leite eqüino apesar dos pesquisadores já reconhecerem a necessidade da realização de estudos na tentativa de validá-los para esta espécie, uma vez que a mastite, detectada pela CCS, pode atingir até 10% das éguas em lactação, e pode estar relacionada com a redução do desenvolvimento do potro, além de comprometer a qualidade do leite para o homem. A contaminação bacteriana, determinada pela CBT, pode até inviabilizar a utilização de um produto para a alimentação.

Diante do exposto, este trabalho foi proposto com o intuito de determinar o perfil físico-químico, a CCS e a CBT do leite de éguas Mangalarga Marchador, durante quatro meses de lactação, em haras localizados em um raio de 120km no entorno de Goiânia-Goiás.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 O LEITE

O leite é um sistema coloidal constituído por uma solução aquosa de lactose, sais e outros elementos, onde se encontram as proteínas, em estado de suspensão e a gordura em estado de emulsão (AMIOT, 1991).

Fisiologicamente, representa a primeira fonte de nutrientes para o potro e sua importância se situa essencialmente até dois a três meses de idade, onde o crescimento é intenso (DOLIGEZ & BAUDOIN, 1998). Durante este período, a correlação entre a ingestão de leite e o ganho de peso é mais forte entre a primeira e a quarta semana e depois diminui entre a quarta e oitava semanas de vida (DOREAU et al., 1986).

De uma maneira geral, o leite das diversas espécies varia na sua composição sob influência de vários fatores. No eqüino, a sua produção e composição podem ser influenciadas por: idade, paridade, peso vivo das lactantes, dieta, condições ambientais e estágio da lactação (SANTOS et al., 2005).

OFTEDAL et al. (1983), confirmaram a influência do estágio de lactação na composição, uma vez que demonstraram que a transição final da composição de colostro a leite maduro, na espécie eqüina, ocorre em torno da terceira semana após o parto. Além disso, segundo os mesmos autores, variações individuais também exercem marcante influência sobre a maioria dos componentes, exceto sobre proteína e açúcar. BOULOT (1987) encontrou ainda efeito significativo da raça na sua composição.

Além dos fatores citados acima, ocorre ainda uma grande variação na composição do leite ao longo da ordenha e por isso, para avaliar a sua qualidade, CSAPO (1984) citado por CSAPO (1995) e SMOLDERS et al. (1990) afirmaram que a amostra a ser utilizada deve ser o resultado de uma ordenha completa. Desta forma, o método de coleta e o intervalo entre ordenhas também influenciam a composição do leite (GIBBS et al., 1982). BOULOT (1987) sugeriu a necessidade da presença do potro no momento da ordenha e OFTEDAL et al.

(1983) indicam ainda a administração de ocitocina com o objetivo de obter todo o leite residual. ELLENDORFF & SCHAMS (1988) estudaram a fundo o mecanismo de liberação do leite na égua e demonstraram que, mesmo na falta de um dos mecanismos que estimulam o reflexo neuroendócrino, a ejeção do leite é possível, entretanto, na falta da ocitocina, sua ejeção está limitada.

SCHRYVER et al. (1986b) afirmaram ainda haver importantes diferenças na composição do leite das diversas espécies de eqüídeos. A principal implicação desta afirmativa está na necessidade de formulação de sucedâneos específicos para cada espécie com o intuito de suprir as suas necessidades.

## **2.2 CAPACIDADE PRODUTIVA DE ÉGUAS**

Numa primeira exploração sobre a capacidade de produção de leite na espécie equina, NEUHAUS (1961) afirmou que, durante toda a lactação, cuja duração é variável entre cinco e oito meses, a égua pode produzir de 2000 a 3000L de leite. Segundo OFTEDAL et al. (1983), as éguas de raças leves, ou de sela (Mangalarga Marchador, Puro Sangue Inglês, Arabe) podem produzir leite equivalente a 3% do seu peso vivo (PV) durante as 12 primeiras semanas de lactação e em torno de 2% do peso vivo durante as 12 seguintes.

SANTOS et al. (2005), em estudo realizado com éguas Mangalarga Marchador no Estado do Rio de Janeiro, observou que as mesmas produziram uma quantidade de leite equivalente a 2,3% do PV no 20º dia de lactação e 1,8% do PV no final da lactação. As quantidades de leite produzidas nos períodos diurno e noturno foram similares.

Poucos estudos estão disponíveis sobre a possibilidade de aumentar a capacidade produtiva de uma égua através da alimentação ou administração de medicamentos. ZIMMERMAN (1985) verificou que a quantidade nem a qualidade do leite podem ser alteradas com o aumento de gordura na alimentação, como ocorre no bovino. SIGLER et al. (1989) afirmaram também não haver modificação na quantidade nem na qualidade produzida quando da administração de progestágenos utilizados durante a reprodução.

## **2.3 FORMAS DE UTILIZAÇÃO DO LEITE EQUINO**

### **2.3.1 UTILIZAÇÃO PELO POTRO**

Uma das principais fases do desenvolvimento de um eqüino, está nos três primeiros meses de vida e qualquer retardo nesta fase pode ser irreversível para a expressão de todas as suas potencialidades (DOLIGEZ & BAUDOIN, 1998; WOLTER, 1999). Nesta fase, o leite é o principal alimento do potro pois seu organismo ainda não está preparado para assimilar satisfatoriamente outros alimentos fornecidos, como o capim e/ou concentrados.

No período inicial de amamentação, o potro necessita de uma quantidade diária de leite, de boa qualidade, que varia entre 20 e 28% de seu peso vivo, para a manutenção do nível ideal de crescimento e desenvolvimento (KOTERBA et al. 1985). Esta quantidade diária torna-se reduzida na medida em que a sua alimentação passa a ser composta por proporções maiores de alimentos sólidos (DOLIGEZ & BAUDOIN, 1998).

Em geral, as necessidades diárias de leite para o desenvolvimento e crescimento do potro são supridas pela produção diária materna, entretanto, deve-se lembrar que existem alguns casos especiais na natureza que necessitam de particular atenção do proprietário, principalmente nos 3 meses iniciais de vida. Trata-se dos potros órfãos / rejeitados e os filhos de éguas que produzem pouca ou nenhuma quantidade de leite. Nestas ocasiões, existe uma sub-oferta ou mesmo a oferta nula de alimento e isto pode trazer sérias conseqüências ao seu desenvolvimento (ZICKER & LONNERDAL, 1994).

Nestes casos torna-se necessário fornecer alimento para o potro de forma artificial. Neste sentido, sabe-se que o leite de uma determinada espécie é a melhor dieta adaptada para alcançar e não exceder as necessidades da prole (RAIHA, 1989). Sendo assim, a melhor solução para estes problemas é a utilização do leite eqüino proveniente dos chamados Bancos de Leite, que podem ser estruturados dentro do próprio haras, pois isto representa a substituição do leite materno, insuficiente ou mesmo ausente, por leite da mesma espécie e portanto de qualidade semelhante, o que implica no atendimento perfeito das

necessidades de desenvolvimento e crescimento do potro, se fornecido em quantidades adequadas (KOTERBA et al. 1990).

Uma outra opção para a solução destes problemas seria o fornecimento de sucedâneos artificiais ou originários de outras espécies. Mas ZICKER & LONNERDAL (1994) alertaram para a necessidade de que estes sejam especificamente formulados e adaptados ao eqüino neonato, uma vez que outros sucedâneos presentes no mercado, como o leite de cabra ou a formulação comercial apresentada sob a forma de pó, podem trazer sérias conseqüências à saúde do potro.

Entretanto, o fornecimento de leite ao potro depende não apenas de sua qualidade físico-química e da quantidade oferecida mas também de sua qualidade sanitária. A vigilância quanto à presença de mastite torna-se fundamental neste período pois a sua existência pode comprometer tanto a qualidade físico-química do leite como, segundo McKINNON & VOSS (1992) pode também ser responsável pela veiculação de doenças infecciosas ao potro. JACOBS (2004) observou que a mastite pode acarretar o atraso no desenvolvimento do potro. A preocupação com a qualidade sanitária do leite para o fornecimento ao potro deve, portanto, estar presente durante todo o período de amamentação e também no momento da estruturação do Banco de Leite.

### **2.3.2 UTILIZAÇÃO PELO HOMEM**

A primeira utilização do leite eqüino pelo homem data do século XIII, na Ásia Central, sob a forma de koumiss, um produto produzido pela fermentação espontânea da lactose em ácido láctico e álcool (OZER, 2000). Este produto lácteo tem sido amplamente utilizado em casos de anemia, tuberculose e doenças agudas do estômago e intestino (KÜCÜKCETIN et al., 2003).

O próprio leite eqüino também possui importantes propriedades nutricionais e terapêuticas (MARCONI & PANFILI, 1998). Atualmente, a sua utilização se baseia, principalmente, na sua semelhança com o leite humano, no que diz respeito à baixa concentração de nitrogênio, baixa relação caseína/proteínas do soro e alta concentração de lactose. Além disso, outras

características como o alto nível de ácidos graxos poliinsaturados e a baixa concentração de colesterol dão suporte ao crescente interesse em utilizá-lo para o consumo humano (KÜCÜKCETIN et al., 2003).

Em geral, trabalha-se comercialmente com o congelamento e/ou desidratação para transformá-lo em leite em pó em busca de aumentar sua vida de prateleira. Vários estudos têm sido realizados para encontrar a melhor forma de armazená-lo sem que haja prejuízo à qualidade.

A maioria destes trabalhos científicos visa a produção do leite em pó. MARCONI & PANFILI (1998) ressaltaram a necessidade de mais estudos sobre o processamento do leite equino para identificar as melhores condições de secagem e estocagem em busca de manter a sua composição original. Ao analisarem produtos comerciais observaram que ambos mantinham algumas características originais como alta concentração de proteínas do soro e de ácidos graxos poliinsaturados e baixa concentração de caseína mas, por outro lado, lisina, tocoferóis e vitamina C – que possui alta concentração no leite integral – estavam parcialmente destruídos.

## **2.4 SITUAÇÃO ATUAL DO MERCADO DO LEITE EQUINO**

O leite equino já é uma realidade mercadológica e deve ser divulgado no Brasil em busca de fortalecer, sócio-economicamente, a equinocultura nacional. A entrada deste produto para o mercado gera novos empregos diretos e indiretos na produção e comercialização do próprio leite e também de equipamentos necessários à sua obtenção como produtos para pré e pós *dipping* e ordenhadeiras.

Além disso, representa boa alternativa para a inclusão da mão de obra feminina no mercado de trabalho pois se observa uma tendência mundial em adotar essa força de trabalho no zelo de equinos. Isto se deve à maior delicadeza para o desempenho destas funções, geralmente inerente à mulher. Neste caso, as esposas dos funcionários do haras poderiam trabalhar na ordenha de éguas e trazer mais renda para o haras e a família.

Entretanto, é necessário ressaltar que a intenção da implementação deste mercado não visa apenas lançar mais um produto de utilidade irrelevante no mercado em vistas ao mero enriquecimento ou mesmo à diversificação de oferta para a equinocultura. É fundamental reforçar que o leite eqüino possui características de “alimento funcional” e todas elas serão explicitadas nos momentos adequados, no decorrer desta dissertação.

Para fazer uma análise do mercado mundial do leite eqüino nos dias atuais, foram buscadas informações na Europa e Ásia, principais centros de produção e consumo. Observou-se que, apesar da dificuldade em avaliar o impacto atual do leite equino sobre a grande distribuição na Europa, os analistas de mercado, como LA CACHEROUTH (2005) percebem movimentos bastante representativos para o ramo como, por exemplo, uma fazenda holandesa que produz 75.000L de leite anualmente, que são exportados para os outros países europeus e os EUA. Além disso, o mercado se mostra otimista e espera-se, para um futuro próximo, o surgimento de aditivos alimentares à base de leite eqüino ou, ainda, alimentos diferentes produzidos à base de leite eqüino. Neste sentido já se observa como exemplos um *bistrot* norueguês que serve sobremesas de leite de égua e fazendas turísticas na França que incluem a degustação de leite eqüino em suas atrações.

Na Europa já existe mercado inclusive para o leite de égua orgânico e alguns haras já se especializaram em produzi-lo a partir de éguas alimentadas apenas com fontes naturais de nutrientes. Estes haras também se preocupam com o bem-estar e a alimentação do potro começando a utilizar o leite comercialmente apenas após o terceiro mês de lactação, época em que a amamentação passa a ser menos importante para o processo de desenvolvimento do potro.

Na Noruega, o leite de égua é comercializado na forma liofilizada em pacotes contendo 100g de leite em pó, o que é equivalente a 1L de leite eqüino fresco, porém, existe ainda a opção de pacotes com 200mL de leite congelado. Ambos os produtos sem adição de conservantes.

Na Bélgica, os haras de produção de leite eqüino representam um grande negócio e seus produtores defendem suas propriedades curativas,

especialmente na consolidação do sistema imune e na estimulação da purificação interna, além da sua alta digestibilidade.

A canadense FARM AND COUNTRY (1999) afirma que, de forma geral, os produtores europeus se encontram entusiasmados com o mercado de leite equino devido ao constante aumento na demanda por hospitais e casas de saúde e também por este ser mais valorizado. No câmbio canadense, é de 10 a 20 vezes mais valorizado do que o litro do leite bovino.

Segundo a UNION NATIONALE INTERPROFESSIONELLE DU CHEVAL (2003), apesar do mercado do leite eqüino não estar amplamente desenvolvido na França, alguns grandes produtores utilizam inclusive éguas de tração para a sua produção, uma vez que elas produzem aproximadamente 20% mais leite do que éguas de sela convencionais.

Como não poderia ser diferente, a produção de leite eqüino pode vir a ser subsidiada na Europa, mas isto significa que a quantidade que cada produtor produz estará restrita a uma cota pré-determinada. Segundo FARM AND COUNTRY (1999) este tipo de controle é ruim para produtores independentes, especialmente quando os preços tenderem a baixar e eles precisarem aumentar a produção para equilibrar a diferença.

Na Ásia, o maior exemplo da importância sócio-econômica do leite eqüino é a Mongólia, país onde o Koumiss (leite de égua fermentado) serviu no passado não apenas para nutrir, mas também para fortalecer a saúde de seu povo e principalmente de seus soldados. Neste país existem 780 mil éguas que produzem 78 mil toneladas de leite por ano e, tanto o leite quanto o Koumiss, são amplamente utilizados ainda nos dias atuais. Entretanto, a falta de infra-estrutura para processar e colocar o produto no mercado gera grandes perdas (CHUNG, 2001).

Tendo em vista a grande desvalorização e mesmo a exclusão da mão de obra feminina no mercado de trabalho daquele país, o grupo GEST (*Gender Equality through Science and Technology*) implementou um projeto que visa promover a inserção da mulher através da produção e comercialização do leite eqüino.

O projeto compreende a industrialização de produtos de leite eqüino, em condições que satisfaçam as exigências do mercado através da utilização de

modernas tecnologias, com o intuito maior de aumentar os rendimentos das famílias de produtores e fornecer alimento para a população utilizando-se de mão de obra feminina (CHUNG, 2001).

Este projeto está ancorado em pesquisas colaborativas e intercâmbios de estágios entre a Coréia e a Mongólia. As principais atividades são baseadas em controle de qualidade para produtos lácteos, para evitar a rancificação do produto e determinar as melhores condições para o *spray* de secagem a fim de aumentar a sua vida de prateleira para 1 ano, além disso, serão realizados estudos sobre a sua qualidade imunológica e nutricional. Os mentores deste projeto pretendem não apenas comercializar internamente, mas também exportar e, para isso, a chave encontrada foi a implementação da construção de infraestrutura técnica e organizacional (CHUNG, 2001).

Além do mercado do leite *in natura*, congelado ou liofilizado, está se iniciando nos últimos anos importante mercado de medicamentos da linha humana cuja base é o leite de égua. São produtos dermatológicos, anti-stress, etc. Para exemplificar os preços praticados pela indústria europeia, segue o Quadro I abaixo.

QUADRO I: Preços praticados na União Europeia para o leite e produtos lácteos equinos.

<b>PRODUTO</b>	<b>PREÇO (euros)</b>
Leite liofilizado – pote de 70g	35,00
Leite liofilizado – 90 cápsulas de 250mg	23,00
Koumiss (2,2% álcool) 300 mL	6,00
Sabonete de leite eqüino com própolis s/ perfume	3,50
Sabonete exfoliante de leite eqüino com própolis	3,00

Fonte: FERME BALESTA (2005).

O comércio de produtos de cosmética e beleza à base de leite de égua está realmente em franco crescimento no mercado e já teve espaço garantido no

*Salon d'Agriculture* de Paris, a principal e mais concorrida exposição de agronegócios na França, como pode ser visto na Figura 1.



Figura 1: *Stand* de produtos de beleza à base de leite de égua no *Salon d'Agriculture*, Paris, 2005.

Fonte: DEFRANCE (2005).

## **VARIÁVEIS UTILIZADAS PARA AFERIÇÃO DA QUALIDADE DO LEITE**

A qualidade do leite é medida através de variáveis físico-químicas e microbiológicas. As principais variáveis avaliadas são os teores de proteína, lactose, acidez, pH, extrato seco total e desengordurado, gordura, crioscopia, densidade, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total. No presente estudo descreve-se detalhadamente cada variável enfocando suas características e sua importância no leite eqüino.

## 2.5.1 COMPOSIÇÃO

### 2.5.1.1 PROTEÍNA

A proteína do leite é sintetizada na glândula mamária a partir de compostos presentes no sangue, sendo os aminoácidos os principais precursores (CARVALHO, 1999).

As proteínas são constituintes essenciais de toda célula e têm uma grande importância no leite e produtos lácteos. São constituídas principalmente por caseínas e proteínas do soro, que podem ser albuminas e globulinas (AMIOT, 1991). Do ponto de vista nutricional, as proteínas do soro são mais ricas do que as caseínas em aminoácidos essenciais normalmente deficitários: lisina, metionina e triptofano (AMIOT, 1991) e passam diretamente do sangue para a glândula mamária (CARVALHO, 1999).

Outras proteínas ainda estão presentes, mesmo que em menor quantidade, representadas por mucoproteína, lipoproteína e algumas ferroproteínas como a lactoferrina e a transferrina (AMIOT, 1991).

O leite apresenta também compostos nitrogenados não protéicos que são moléculas de peso molecular bastante baixo, compostas por uréia, ácido úrico, creatina, creatinina, amoníaco, aminoácidos livres, indican, adenina e guanina (AMIOT, 1991).

Os estudos relevantes sobre o perfil de proteínas no leite equino tiveram início na década de 80, quando BELL et al. (1982) identificaram e caracterizaram várias proteínas do soro no leite equino. Posteriormente, ZICKER & LONNERDAL (1994) demonstraram que a caseína representa apenas 22% a 50% das proteínas totais do leite equino o que lhe confere caráter albuminoso, e portanto rico em aminoácidos essenciais, semelhante ao leite humano. Posteriormente, CSAPO et al. (1995) afirmaram que, após o período colostrar, a fração de proteínas do soro é composta por 11% a 21% de imunoglobulinas, 2% a 15% de soroalbumina, 26% a 50% de  $\alpha$ -lactalbumina e 28% a 60% de  $\beta$ -globulina.

O índice de compostos nitrogenados não protéicos varia entre 10 e 15% do nitrogênio total no leite eqüino maduro e é intermediário entre o humano, 25% e o bovino, 5% (ZICKER & LONNERDAL, 1994).

Além de possuir caráter albuminoso, o leite eqüino contrasta ao bovino por seu equilíbrio entre proteína e gordura. Segundo CARVALHO (1999) a proteína do leite bovino não deve ser superior à gordura em mais do que 0,4%. ULLREY et al. (1966); OFTEDAL et al. (1983); MORAIS et al. (1999) encontraram níveis de proteína superiores em relação à gordura em todos os momentos e estágios da lactação avaliados.

Os valores encontrados por estes autores para os níveis de proteína e gordura no leite eqüino estão descritos no Quadro II, a seguir. Percebe-se uma superioridade significativa da concentração da proteína com relação à gordura em todos os estudos realizados.

QUADRO II: Níveis de proteína e gordura – em percentagem - encontrados no leite eqüino por diversos autores, em diversas raças.

Autor	Raça	Proteína (%)	Gordura (%)
ULLREY et al. (1966).	Quarto de Milha e Árabe	2,00 – 3,10	1,30 – 2,00
OFTEADAL et al. (1983)	Puro Sangue Inglês	1,83 – 2,64	1,19 – 1,78
MORAIS et al. (1999)	Quarto de Milha	1,43 – 2,20	0,10 – 1,10
MORAIS et al. (1999)	Campolina	1,55 – 2,10	0,47 – 2,20
SANTOS et al. (2005)	Mangalarga Marchador	1,48 – 2,40	0,86 – 1,70

Fonte: Adaptado de ULLREY et al. (1966); OFTEADAL et al. (1983); MORAIS et al. (1999); SANTOS et al. (2005).

Vários autores buscaram esclarecer quais fatores influenciam a proteína do leite equino. SMOLDERS et al (1990) encontraram efeito do indivíduo e afirmaram ainda que o leite de éguas de sangue quente (animais agitados) é

inicialmente menos concentrado e reduz mais rapidamente a concentração de proteína do que o de éguas de sangue frio (menos agitadas, por exemplo: Mangalarga Marchador, Quarto de Milha) no decorrer da lactação.

CSAPO et al. (1995) afirmaram que o estágio da lactação é o fator que mais influencia esta variável pois o teor de proteína diminui rapidamente até a segunda semana de lactação e em seguida continua decrescendo mais lentamente até o final do segundo mês. CIVARDI et al. (2002) afirmaram ainda que o estágio da lactação influencia no próprio perfil de proteínas do leite equino. MARIANI et al. (2001) demonstraram que o teor de caseína reduz em 60% e o de globulinas reduz em 38% no decorrer da lactação.

DOREAU et al. (1990) evidenciaram que a alimentação é um importante fator de influência pois o aumento da energia na dieta ocasionou decréscimo na concentração de proteína do leite, fato que já havia sido observado por PAGAN & HINTZ (1985). Quanto ao nível de nitrogênio na dieta, os resultados encontrados ainda são controversos, segundo DOREAU et al. (1986), alguns autores não encontraram relação entre este e os níveis de proteína e nitrogênio não protéico do leite, enquanto outros descreveram uma redução dramática desta variável no leite a partir da redução do nitrogênio na dieta. MARIANI et al. (2001) acreditam que o baixo teor de proteína no leite de éguas Haflinger utilizadas em seu estudo é devido à nutrição das mesmas que se baseia quase exclusivamente em forrageira.

Do ponto de vista da nutrição humana, o perfil protéico do leite equino é desejado devido a vários fatores como, por exemplo, o baixo teor de caseína, a boa relação proteína/caseína e a diferença na estrutura das micelas, que formam um precipitado mais fino e macio que é fisiologicamente mais digerível do que o coágulo do leite bovino e por isso torna-se importante para a nutrição de crianças (SOLAROLI et al. (1993); EGITO et al. (2001)).

BUSINCO et al. (2000) explicaram que o baixo teor de proteínas no leite equino evita a sobrecarga renal de solutos nas crianças por excesso de proteína. Demonstraram que das crianças que apresentaram quadro de reação alérgica ao leite bovino, apenas 4% apresentaram reação também ao leite equino. Isto se deve à diferença estrutural nas cadeias de aminoácidos das proteínas do leite equino. MALACARNE et al (2002) ressaltou que, na

necessidade de substituir o leite materno humano por outro, o leite equino deve ser preferido pois o seu perfil de aminoácidos é muito próximo ao do leite humano.

O quadro alérgico ao leite bovino, citado no parágrafo anterior, é causado pela  $\alpha_{s1}$ -caseína que está presente em grandes quantidades no leite bovino, no leite eqüino a fração caseinosa é composta basicamente de quantidades iguais de  $\beta$ -caseína e  $\alpha_s$ -caseína e estudos ainda estão sendo desenvolvidos no sentido de caracterizar as sub-frações da  $\alpha_s$ -caseína (EGITO et al., 2002).

### **2.5.1.2 GORDURA**

As substâncias que podem ser extraídas do leite com solventes orgânicos não polares como o éter, benzeno ou clorofórmio representam a gordura. A fração de gordura inclui glicerídeos, lipídios complexos como os fosfolipídeos e os cerebrosídeos; e esteróis, como o colesterol e seus precursores; e ácidos graxos livres (AMIOT, 1991).

A gordura no leite de égua está organizada em glóbulos de 2-3 $\mu$ m. Estes glóbulos estão cobertos por três camadas sendo uma camada interna de proteína, uma intermediária que consiste em uma membrana fosfolipídica e a mais externa formada por glicoproteínas de alto peso molecular. Na superfície destas glicoproteínas existe uma estrutura ramificada de oligossacarídeos que é similar àquela dos glóbulos do leite humano e que não é encontrada no leite bovino (KOLETZKO & RODRIGUEZ-PALMERO, 1999).

O ponto chave da importância da gordura no leite eqüino está em sua qualidade, ou seja, no seu perfil de ácidos graxos pois o leite eqüino contém concentrações muito baixas de ácidos palmítico e esteárico e altas de ácidos linolênico e linoleico (KULISA, 1986). Isto pode ser explicado pelo fato de que os equinos consomem uma grande quantidade de forrageira, que é rica em ácidos graxos insaturados e os mesmos não são hidrogenados no sistema digestivo desta espécie.

Busca-se o conhecimento de fatores que influenciam a concentração e qualidade da gordura e vários deles já estão definidos. DAVISON et al. (1987) descreveram o seu aumento no leite associado com um aumento da gordura na dieta, DOREAU & BOULOT (1989) afirmaram haver o efeito do ambiente, e SMOLDERS et al. (1990) demonstraram que a fração do leite observada também apresenta diferença, ou seja, o leite residual da égua é mais concentrado em gordura do que os 50mL iniciais. Segundo os mesmos, existe ainda um efeito do indivíduo para a concentração média de gordura no leite eqüino.

PAGAN & HINTZ (1986) afirmaram que o aumento da energia na dieta devido ao maior consumo de milho, ocasionou decréscimo na concentração de gordura e energia total no leite, provavelmente pela diluição dos nutrientes devido a um maior volume de água secretado no leite.

Quanto à qualidade da gordura, os estudos estão atualmente direcionados a compreender a influência da dieta no perfil de ácidos graxos no leite. CSAPO et al. (1995) afirmaram que a qualidade de ácidos graxos da dieta tem uma importância muito maior no perfil de ácidos graxos do leite equino do que no bovino.

HOFFMAN et al. (1998) demonstraram que o uso de óleo de milho e fibra como fonte de energia no concentrado fornecido a éguas sob pastejo melhorou a qualidade da gordura pois estas éguas apresentaram uma maior concentração de ácido linoleico no leite.

Segundo DOREAU (1992), éguas alimentadas com uma dieta rica em forrageira (95% feno e 5% concentrado) comparadas a éguas alimentadas com dieta rica em concentrado (50% feno e 50% concentrado), apresentaram maiores níveis de gordura, proteína e ácido linolênico e menores níveis de ácido linoleico.

Por haver predominância de ácidos graxos insaturados no leite eqüino, acredita-se que a gordura do leite de égua seja um componente mais desejável para a dieta humana do que a gordura do leite de vaca. A diferença no perfil de gordura entre os dois é tão importante que este parâmetro é utilizado para determinar a fraude por adição de leite bovino no leite eqüino, pois a razão ácidos graxos insaturados / saturados é de 1,32 no leite eqüino, e de 0,45 no bovino (CSAPO et al., 1995).

O ácido linoleico, presente em grandes quantidades no leite eqüino possui importante papel na prevenção de úlceras gástricas tanto em humanos (SHARMANOV et al., 1981, SHARMANOV et al., 1982) quanto em potros (HOFFMAN et al., 1998) pois é precursor de prostaglandina e, portanto, estimula a produção gástrica da prostaglandina E.

Além disso, a estrutura molecular da gordura do leite eqüino, detalhada por KOLETZKO & RODRIGUEZ-PALMERO (1999) permite que o mesmo tenha melhor digestibilidade pela ação de lipases.

### **2.5.1.3 LACTOSE**

Os açúcares do leite estão compostos essencialmente por lactose e outros açúcares em pequenas quantidades, como a glicose (0,1%) e a galactose (AMIOT, 1991).

O leite eqüino apresenta alto teor de lactose, o que o torna bastante saboroso. Esta variável, como as demais, pode ser influenciada por diversos fatores. ULLREY (1966) observou que a sua concentração aumentou do parto 4,6%, até atingir o pico de 6,6% aos três meses de lactação das éguas utilizadas em seu estudo, entretanto, o número de indivíduos utilizados foi pequeno para demonstrar estatisticamente a importância do estágio da lactação nesta variável.

OFTEDAL et al. (1983) não encontraram efeito significativo do indivíduo para o teor de lactose na matéria seca do leite, embora o mesmo efeito tenha sido significativo para a maioria dos componentes testados em seu estudo, realizado durante os primeiros 54 dias de lactação. No referido trabalho, a concentração média de lactose foi de 6,91%.

SMOLDERS et al. (1990) concordaram com OFTEDAL et al. (1983) quanto ao efeito do indivíduo e afirmaram a existência de uma correlação negativa entre as concentrações de proteína e de lactose entre sete e 90 dias de lactação.

MORAIS et al. (1999) não encontraram efeito da raça em estudo realizado com éguas Campolina e Quarto de Milha. Os teores médios de lactose foram iguais a 5,84% em éguas Campolina e 5,40% em éguas Quarto de Milha,

sendo que seus valores variaram entre 4,70 e 7,50%, e 4,00 e 6,30%, para cada raça, respectivamente. Os autores afirmaram ainda não haver diferença significativa entre o teor de lactose do leite eqüino e do humano, apesar de ligeira superioridade na concentração da lactose no leite eqüino.

PAGAN & HINTZ (1986) demonstraram que o aumento no fornecimento de energia na dieta não altera a concentração de lactose no leite equino.

A alta concentração de lactose no leite equino, além de aumentar a sua palatabilidade, estimula a absorção intestinal de cálcio, o que pode representar um fator favorável à calcificação dos ossos durante os primeiros meses de vida de uma criança (BUSINCO et al., 2000). Além disso, a lactose contém o fator *bifidus* que melhora a qualidade da flora intestinal e provoca a morte de microrganismos prejudiciais ao intestino.

#### **2.5.1.4 EXTRATO SECO TOTAL (EST) E EXTRATO SECO DESENGORDURADO (ESD)**

O extrato seco total (EST) é a soma de todos os componentes sólidos do leite, enquanto o extrato seco desengordurado (ESD) é equivalente à diferença entre o EST e o teor de gordura no mesmo (AMIOT, 1991). A importância destas variáveis para o leite é que elas traduzem a quantidade real, e não relativa, de cada nutriente ingerido durante a sua ingestão.

A ocorrência de enfermidades, sobretudo de mastites, pode causar alterações significativas na composição do leite. Animais acometidos de mastite clínica, ou mesmo subclínica, apresentam uma diminuição nos percentuais de gordura, lactose e, em alguns casos, de proteína (KITCHEN, 1981), conseqüentemente apresentam redução de EST e ESD.

O estágio da lactação influencia os valores de EST e ESD. ULLREY et al. (1966) encontraram valores de sólidos totais mais elevados até a quinta semana de lactação, apresentando valores entre 11,2 e 12%. Após este período, o EST permaneceu entre 10 e 10,4%. Os estudos de OFTEDAL et al (1983); PAGAN & HINTZ (1986) e MORAIS et al. (1999) apresentaram EST médio de

9,63%, 10,4% e 10,99% e concordam com os resultados encontrados por ULLREY et al. (1966).

A alimentação também pode interferir nesta variável pois, segundo PAGAN & HINTZ (1986), o aumento da energia na dieta ocasionou decréscimo na concentração de sólidos totais no leite.

Segundo CSAPO et al. (1995 ) não existe efeito significativo de raça no extrato seco total que, no seu estudo, foi de 12,55% para o leite coletado entre 2 e 5 dias e de 10,42% para o leite coletado entre 8 e 45 dias.

O percentual de ESD no leite bovino diminui progressivamente com a idade do animal e, dentro de um ciclo de lactação, apresenta uma variação inversa à curva de produção de leite, ou seja: no primeiro mês seu valor é alto, diminuindo no segundo mês quando há o pico de produção e voltando a aumentar no final da lactação, na medida em que a produção decresce. Este fato não foi observado por ULLREY et al. (1966), em equinos, uma vez que se observou apenas a diminuição abrupta deste parâmetro nas primeiras 12 horas com conseqüente tendência à ligeira diminuição durante os quatro meses de lactação.

Valores de ESD iguais a 8,7%; 9,23%; 9,66%; 9,52% e 9,21% foram encontrados por ULLREY et al. (1966); OFTEDAL et al (1983); PAGAN & HINTZ (1986) e MORAIS et al. (1999) em seus estudos.

## **2.5.2 FÍSICO-QUÍMICA**

### **2.5.2.1 DENSIDADE**

A densidade absoluta é definida pela massa de uma substância por unidade de volume. A densidade relativa é a relação entre sua massa volumétrica (densidade absoluta) e a da água. Dado que a massa volumétrica de qualquer substância varia de acordo com a temperatura, é importante especificá-la quando se faz a sua aferição (AMIOT, 1991).

A densidade está relacionada à riqueza do leite em sólidos totais, diminuindo portanto com a adição de água, por isso esta é uma prova importante na busca por fraudes (BRASIL et al., 1999).

Em trabalho realizado por ULLREY et al. (1966), com leite de éguas, a densidade caiu abruptamente nas primeiras 12 horas após o parto e depois tendeu a cair lentamente até quatro meses, como mostra o Quadro III a seguir.

QUADRO III: Densidade do leite de éguas Árabe e Quarto de Milha em Michigan, EUA, 1966.

<b>ESTÁGIO DE LACTAÇÃO</b>	<b>DENSIDADE (g/mL)</b>
Parto	1,076+-0,004
12 horas	1,036+-0,001
24 horas	1,035+-0,001
48 horas	1,035+-0,001
5 dias	1,035+-0,000
8 dias	1,034+-0,001
3 semanas	1,035+-0,000
5 semanas	1,034+-0,001
2 meses	1,033+-0,001
3 meses	1,034+-0,000
4 meses	1,034+-0,000

FONTE: Adaptado de ULLREY et al. (1966).

MORAIS et al. (1999) encontraram a densidade média do leite de éguas Campolina em 1,0346g/mL e de Quarto de Milha em 1,0342g/mL, o que não representou diferença significativa entre as raças estudadas.

SUMMER et al. (2000) encontraram o valor da densidade do leite equino variando de 1,038g/mL no quarto dia após o parto a 1,035g/mL no sexagésimo dia. A partir de então esta variável se manteve praticamente constante em aproximadamente 1,035g/mL até os 180 dias de lactação.

### 2.5.2.2 INDICE CRIOSCÓPICO

Esta variável corresponde à temperatura de congelamento do leite, que está abaixo da temperatura de congelamento da água devido à presença de componentes lácteos solúveis em água, principalmente os minerais e a lactose. Os componentes insolúveis do leite, como a proteína e a gordura, não interferem no valor desta variável (BRASIL et al., 1999).

Pela relativa constância do ponto crioscópico do leite e sua variação proporcional de acordo com a quantidade adicionada, aliados à relativa facilidade de aferição, quando comparado com as outras propriedades coligativas das soluções, a crioscopia se tornou o método universalmente aceito para a constatação de fraude por adição de água (BRASIL et al. 1999).

No estudo de MORAIS et al. (1999), o leite de éguas Campolina se congelou a  $-0,540^{\circ}\text{C}$  e o da raça Quarto de Milha, a  $-0,560^{\circ}\text{C}$ . SUMMER et al. (2000) estudaram a evolução do índice crioscópico e notaram uma variação considerável entre o quarto e 60º dia indo de  $-0,536^{\circ}\text{C}$  para  $-0,520^{\circ}\text{C}$ , a partir de então e até 180 dias de lactação estes valores se mantiveram constantes em aproximadamente  $-0,524^{\circ}\text{C}$ .

### 2.5.2.3 ACIDEZ e pH

A acidez é uma variável ligada à qualidade microbiológica do leite e indica a atividade microbiana existente no produto. Quando está muito elevada, significa que o mesmo está impróprio para consumo, pois indica que existe uma alta atividade microbiana (BRASIL et al., 1999).

A acidez constitui a variável de maior variabilidade entre os animais de uma mesma raça. O teste da fenolftaleína tem sido o mais utilizado para a sua avaliação pois detecta o aumento da concentração de ácido láctico que é formado pela fermentação dos açúcares do leite e relaciona-se com a qualidade microbiológica do produto. Entretanto, outros componentes ácidos do leite podem interferir neste parâmetro, dentre os quais destacam-se citratos, fosfatos e proteínas (BRITO, 1995).

NEUHAUS (1961), acompanhou aproximadamente 40 semanas de lactação de duas éguas Hannoverianas, encontrou o pH médio de 7,0 e acidez média de 1,8°D. A acidez máxima (6,2° D) foi encontrada no colostro. O mesmo autor afirmou que a coagulação do leite ocorreu quando a acidez esteve entre 15 e 16°D.

MORAIS et al. (1999) encontraram acidez média para leite de éguas Campolina de 6,95°D e para éguas Quarto de Milha, 4,43°D. Este foi o parâmetro estudado que mais variou entre as raças utilizadas em seu trabalho.

SUMMER et al. (2000) encontraram acidez moderadamente alta, em torno de 6,08°D no quarto dia após o parto, seu valor caiu drasticamente para 3,4°D no 20° dia e, a partir de então até os 180 dias, a variação foi moderada mas apresentou uma tendência à queda chegando a 2,01°D no 180º dia. Os seus resultados se aproximaram dos encontrados por NEUHAUS (1961).

O pH está geralmente associado à sanidade da glândula mamária e a fatores que influenciam no equilíbrio eletrolítico do organismo. Em bovinos, a presença de mastite implica na alcalinidade do leite nas primeiras horas após a ordenha. Não foram encontrados trabalhos de referência desta variável na presença de mastite em equinos.

Entretanto, SUMMER et al. (1999) estudaram o leite equino saudável e demonstraram que o pH do leite produzido até 4 dias após o parto é de 6,6, nas próximas 2 a 3 semanas o seu valor aumenta rapidamente para 6,93 e, após esta fase, as variações são moderadas mas suficientes para indicar uma tendência a aumentar chegando a 7,11.

CORDEIRO et al. (1998), em estudo sobre a mastite, encontrou a média do pH igual a 6,71 para éguas saudáveis e 6,74 para as éguas doentes (cultura positiva). Não constatou diferença significativa entre os valores de glândulas normais e anormais.

### **2.5.3 QUALIDADE SANITÁRIA**

A qualidade sanitária do leite é aferida através da contagem de células somáticas (CCS) e a contagem bacteriana total (CBT) que nos mostram a

existência de uma reação inflamatória na glândula mamária e a higiene da ordenha realizada, respectivamente.

Os estudos sobre estas variáveis e fatores que as influenciam estão avançados na análise do leite bovino, entretanto, no leite da espécie eqüina, apesar dos autores já estarem cientes da importância de estabelecimento de padrões para as mesmas, poucos estudos são encontrados. Devido a esta baixa disponibilidade de informações e à sua importância para a indústria láctea, para o bem estar do ser humano e para o potro serão mencionadas neste capítulo algumas particularidades já conhecidas para a espécie bovina. Após as considerações obtidas a partir da vasta disponibilidade de estudos em bovinos, será discutida também alguma informação que já se encontra disponível para a espécie eqüina.

#### **2.5.3.1 CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS)**

A contagem de células somáticas é um forte indicador do estado sanitário do animal e do rebanho (POUTREL, 1985) amplamente utilizado como um indicador de mastite subclínica, sendo aceita também, como a medida padrão para determinar a qualidade do leite (TSENKOVA et al., 2001).

As células somáticas do leite são essencialmente constituídas por glóbulos brancos: linfócitos, macrófagos e polimorfonucleares provenientes da corrente sanguínea cujo número aumenta consideravelmente em caso de infecção na glândula mamária (COULON et al., 1996).

A ação de microrganismos no interior da glândula mamária libera substâncias que estimulam a migração de leucócitos a fim de combater os agentes agressores aumentando, dessa maneira, a CCS (MACHADO et al., 1999). Entretanto, existem algumas alterações importantes na contagem celular somática que não estão ligadas ao estado sanitário da glândula mamária (COULON, et al., 1996).

Segundo o mesmo autor, o estágio da lactação e a idade levam a uma variação particular da CCS mesmo em animais livres de mastite. As situações de

stress também podem provocar o seu aumento. Quanto às variações sazonais, os estudos ainda são controversos.

Em seu estudo, COULON et al. (1996) demonstraram que vacas primíparas apresentaram contagem celular somática mais elevada em início de lactação e menor em final de lactação do que as multíparas. Também afirmaram a existência do efeito raça, independente do nível de produção. Vacas que apresentaram dois episódios de mastite em lactações anteriores apresentaram contagem celular somática mais elevada do que vacas que sofreram apenas um ou nenhum episódio.

No mesmo estudo, os autores observaram uma correlação negativa entre produção de leite e CCS e não encontraram correlação entre a mudança do sistema de criação – confinamento x pastagem – e a CCS.

A CCS é considerada normal em bovinos quando em níveis abaixo de  $2,0 \times 10^5$  cél/mL (HARMON, 2001). Assim, uma elevação acima de deste valor é considerada indicativa de inflamação do úbere, sendo que esse valor, segundo SORDILLO et al. (1997) chega a milhões de cél/mL nos casos clínicos.

No bovino, o aumento da CCS vinculado à presença de mastite está acompanhado de alterações na composição do leite. AUDISTIST & HUBBLE (1998) relataram que o efeito da mastite sobre a concentração total de proteína é variável. LE ROUX et al. (1995) relataram que o aumento da CCS no leite leva à redução na concentração de  $\alpha$ -caseína,  $\beta$ -caseína e o aumento na concentração de  $\kappa$ -caseína.

KITCHEN (1981) ressaltou que o percentual de gordura do leite cai como conseqüência da infecção do úbere e que quando a produção de leite é reduzida em maior proporção que a síntese de gordura, a porcentagem de gordura aumenta.

RANDOLPH & ERWIN (1974) explicaram que a composição da gordura do leite também está alterada em animais com mastite, ocorre queda na concentração de ácidos graxos de cadeia longa e aumento de ácidos graxos livres (AGL) e de cadeia curta. De acordo com KITCHEN (1981), tais mudanças na constituição da gordura do leite alteram sua qualidade e conferem ao leite e aos derivados um sabor particularmente desagradável.

A infecção da glândula mamária resulta ainda em uma menor síntese de lactose devido à diminuição do fluxo sanguíneo e conseqüente diminuição do seu precursor, a glicose, proveniente do sangue (BUENO, 2004).

PHILPOT & NICKERSON (1991) descreveram que os percentuais de sólidos totais sofrem queda quando do aumento da CCS. FONSECA & SANTOS (2000) observaram também alterações no teor de minerais do leite proveniente de vacas com mastite, incluindo queda do teor de cálcio e fósforo e aumento de sódio e cloro, o que afeta as características sensoriais e de rendimento dos derivados lácteos.

Em equinos, existem poucos estudos sobre sanidade da glândula mamária e geralmente estas se atêm a informações clínicas sobre a mastite sendo que a maioria das informações se resume a relatos de casos. McKINNON & VOSS (1992) observaram a influência da sazonalidade no aparecimento de mastite em éguas, sendo no verão a maior incidência.

KIELWEIN (1994), citado por JACOBS (2004), afirmou que toda secreção mamária contém células somáticas mas enquanto na secreção de glândulas mamárias saudáveis estas células são encontradas apenas em pequeno número, este aumenta quando as glândulas mamárias estão inflamadas.

JACOBS (2004) verificou os seguintes dados apresentou uma tese de doutorado muito importante para o estudo da sanidade da glândula mamária e qualidade sanitária do leite eqüina e deu o passo inicial para estudos mais aprofundados sobre a mastite e sua importância para a indústria eqüina.

O autor reuniu alguns trabalhos sobre a CCS, período de observação e metodologia de análise e os resumiu em um quadro que será discutido no QUADRO IV.

QUADRO IV: Comparação da contagem celular somática e período de observação, bem como a metodologia utilizada, em diversos estudos do leite eqüino.

<b>Autor</b>	<b>Céls/mL - média</b>	<b>Período de observação</b>	<b>Núm. de animais</b>	<b>Método</b>
OKADA (1960)	100.000+- 30000	No decorrer da lactação	3	Microscopia
REMBALSKI (1979)	7500	Leite maduro	23	Fluorescência óptica
NASSAL u. REMBALSKI (1980)	8.500	No decorrer da lactação	242	Fluorescência óptica
USTINOWA et al. (1982)	77.900 ± 4.900	Leite maduro	Não declarado	Fluorescência óptica
RIOS et al. (1989)	72.814 55019 39643	1. – 15. dias 16. – 84. dias 85. – 168. dias	102	Microscopia
ZOEGE VON MANTEUFFEL (1989)	16390	Leite maduro	13	Fluorescência óptica
BLÖMER (1990)	468.840 138.600 149.000	colostro 10. dias 20. dias	30	Fluorescência óptica
BARTMANN et al. (1996)	10.500 (maximal)	No decorrer da lactação	66	Não declarado
RIELAND (1997)	377.746 20.000 10.000	Colostro 1. mês 2. a 3. meses.	31	Fluorescência óptica
PRESTES et al. (1999)	146.200	9-160 dias	38	Microscopia
HANS (2000)	76.500 13.000 10.700	Colostro 2- 4 dias. 6 –56 dias	35	Fluorescência óptica e microscopia
TIETZE et al. (2001)	100.000	No decorrer da lactação	30	Fluorescência óptica e microscopia

Fonte: JACOBS (2004).

Observa-se no Quadro IV que geralmente o colostro equino apresenta maior CCS do que o leite maduro (RIOS et al. 1989; BLÖMER, 1990; RIELAND, 1997 e HANS, 2000 citados por JACOBS 2004). Além disso, percebe-se grande amplitude para esta variável entre os diversos estudos. Um dos motivos apontados por JACOBS (2004) para esta amplitude é o fato de alguns autores terem, possivelmente, incluído éguas com mastite sub-clínica em seus estudos. Esta afirmação, segundo JACOBS (2004), se baseou no fato de que REMBALSKI (1979), RIOS et al. (1989), ZOEGE VON MANTEUFFEL (1989), BLÖMER (1990), PRESTES et al. (1999) e HANS (2000) encontraram éguas clinicamente saudáveis com cultura bacteriana positiva.

O estudo de PRESTES et al. (1999) é uma boa opção para ilustrar a explicação de JACOBS (2004), pois a contagem celular somática em seu estudo foi bastante alta, sendo a menor CCS constatada de 110.500 cél/mL.

PRESTES et al. (1999) abordaram a necessidade da realização de mais estudos na tentativa de estabelecer padrões para a contagem de células somáticas como indicativo de infecção intramamária nesta espécie.

VON BOSTEDT (1994) e MIELKE (1994) citados por JACOBS (2004), estipularam que o leite equino maduro saudável contém 7500 cél/mL em média com uma variação entre  $1,0 \times 10^3$  e  $6,5 \times 10^3$  cél / mL.

No estudo de JACOBS (2004) houve diferença significativa para a CCS nos diferentes estágios funcionais da glândula mamária. Contagens de células somáticas acima de  $1,0 \times 10^5$  céls/mL durante a lactação e acima de  $4,0 \times 10^5$  céls/mL na fase de involução foram declaradas como indicativas de mastite. Nestes casos, aproximadamente 60% das amostras mastíticas apresentaram achados histológicos anormais, havendo correlação altamente significativa entre a citologia anormal e o grau de inflamação presente no complexo mamário envolvido.

O mesmo autor demonstrou que a mastite acomete 5% do rebanho de éguas reprodutoras e que, em rebanhos que apresentam problemas acumulativos, este número pode atingir até 10%. Encontrou ainda, maior predisposição ao acometimento pela mastite durante o período de involução da glândula mamária apesar de ter reportado casos também durante a lactação.

Quanto às alterações citológicas e qualitativas provocadas pela mastite no leite eqüino, CHAVATTE (1997) afirmou que a alteração na CCS é semelhante à ocorrida no bovino. JACOBS (2004) afirmou que em 70% das amostras obtidas de glândulas mamárias inflamadas houveram alterações na cor e/ou consistência do leite.

JACOBS (2004) afirmou ainda que a mastite pode trazer prejuízos para o desenvolvimento do potro da lactação atual e também da lactação seguinte.

### **2.5.3.2 CONTAGEM BACTERIANA TOTAL**

A contagem bacteriana total (CBT) é a variável utilizada para aferir a contaminação microbiana do leite. O controle microbiológico avalia o risco que o leite pode apresentar para a saúde do consumidor quando possui microrganismos patogênicos ou suas toxinas e permite avaliar também o tempo de conservação (tempo de prateleira) do leite, que está relacionado à presença de microrganismos da flora normal, não patogênica. Quando o número desses microrganismos é elevado, ocorrem alterações nas propriedades nutritivas e sensoriais do leite (BRITO, 1995).

As bactérias presentes no leite podem ser coliformes; bactérias formadoras de ácido láctico que desenvolvem a acidez formando ácido láctico a partir da lactose; psicotróficas que causam alterações físicas e vários sabores indesejáveis ao leite, normalmente encontradas na água e em vasilhames que não foram lavados adequadamente; mesófilas que incluem a maioria dos contaminantes do leite e podem atingir altas contagens quando o mesmo é mantido à temperatura ambiente; termófilas que são encontradas normalmente em pequeno número e sua presença no leite está relacionada à falta de higiene e pouca ventilação nos estábulos; e as termodúricas que são bactérias mesófilas que sobrevivem, tanto à temperatura de pasteurização, quanto à de refrigeração, quando presentes no leite indicam deficiências na limpeza e higienização de utensílios e equipamentos. (BRITO, 1995)

As bactérias podem promover várias alterações no leite como a acidez, o desenvolvimento de sabor rançoso e a degradação de proteínas (causa de alterações físico-químicas e problemas de sabor e aroma) (BRITO, 1995).

Ainda existem poucos estudos sobre a microbiologia do leite eqüino. NEUHAUS (1961) foi precursor do estudo da CBT para o leite eqüino e, em seu trabalho, coletou o leite de duas éguas durante aproximadamente 40 semanas e encontrou contagem bacteriana total (CBT) variando entre  $3,0 \times 10^2$  e  $7,80 \times 10^3$  UFC/mL e, na maioria das vezes, o grupo coli estava ausente.

BLÖMER (1990) colheu leite de éguas no primeiro, décimo e vigésimo dias após o parto, durante o decorrer de um ano e detectou em seu estudo que a CBT no leite fresco aumentou no décimo e vigésimo dias.

O autor também comparou o comportamento da CBT no leite fresco, congelado ou adicionado de conservante. Observou que a CBT foi significativamente mais elevada no leite fresco do que no congelado e no que continha conservante. Por outro lado, o leite com conservante apresentou CBT consideravelmente mais baixa do que o congelado. Houve ligeiro aumento da CBT no leite congelado, o que não aconteceu no adicionado de conservante.

Na tentativa de relacionar CBT, CCS, idade da égua e presença de endoparasitas, os resultados encontrados levaram BLÖMER (1990) a afirmar que não houve correlação entre CBT ou CCS e a idade da égua e que houve correlação apenas entre a concentração bacteriana e o número de células somáticas, não havendo correlação entre o conteúdo bacteriano e o perfil celular encontrado. O mesmo autor não encontrou correlação entre a presença de endoparasitas e CBT ou CCS.

JACOBS (2004), em seu trabalho sobre mastite, demonstrou que 70% das éguas que apresentaram a forma clínica da doença apresentaram agentes patogênicos e apenas 50% das clinicamente saudáveis apresentaram os mesmos em seu leite.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar a qualidade do leite de éguas da raça Mangalarga Marchador por meio do emprego de variáveis físico-químicas e biológicas.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Determinar os valores médios das seguintes variáveis de qualidade do leite de égua, medidas em diferentes fases da lactação: acidez, densidade, crioscopia e pH pelo método convencional; proteína, gordura, lactose, EST e ESD pelo Infravermelho próximo e CCS e CBT por citometria de fluxo.

Verificar se equipamentos que empregam a tecnologia de citometria de fluxo e do infravermelho próximo fornecem resultados satisfatórios na análise do leite de égua.

Comparar os valores médios das variáveis de qualidade do leite de égua entre os quatro haras que fizeram parte do experimento.

Verificar se a alimentação, manejo e individualidade influenciaram as variáveis de composição e qualidade sanitária do leite de éguas.

## **4 METODOLOGIA E ESTRATÉGIA DE AÇÃO**

No presente estudo foram utilizadas éguas provenientes de haras localizados em um raio de até 120 km de distância de Goiânia – Goiás. As amostras colhidas foram analisadas nos laboratórios do Centro de Pesquisa em Alimentos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás (CPA/EV/UFG).

### **4.1 SITUAÇÃO DOS ANIMAIS E HARAS**

Foram utilizadas 31 éguas da raça Mangalarga Marchador com idades variando entre 3 e 19 anos, escolhidas aleatoriamente em quatro diferentes haras. Do haras 1 foram utilizadas seis éguas; do haras 2, nove éguas; do haras 3, oito éguas e do haras 4, oito éguas.

Éguas que apresentaram mastite clínica foram retiradas do estudo e a causa explicitada para o proprietário. Os dados anteriores à mastite foram aproveitados para a estatística do presente estudo.

Os haras utilizados situam-se num raio de até 120 km no entorno de Goiânia, sendo o haras 1 localizado no município de Cezarina; haras 2, no município de Vianópolis; haras 3 no município de Anápolis e o haras 4 no município de Ouro Verde. Portanto, geograficamente, estes haras foram representativos de todo o entorno da cidade de Goiânia.

O haras 1 era o menor e com menor infra-estrutura. Possuía em torno de 20 animais, entre matrizes, garanhão, potros ao pé, potros desmamados e adultos. Suas matrizes tinham entre 7 e 19 anos e eram todas provenientes de uma mesma linhagem.

O haras 2 era o maior e com melhor infra-estrutura. Possuía em torno de 100 animais, entre matrizes, garanhões, potros ao pé, potros desmamados e animais de esporte. Suas matrizes tinham entre 3 e 17 anos. Devido à atividade deste haras, que envolve transferência de embriões, algumas éguas utilizadas nesse estudo eram receptoras e, por isso, não foi possível determinar o número de partos das mesmas.

O haras 3 era de tamanho intermediário e possuía infra-estrutura satisfatória. Possuía em torno de 30 animais, entre matrizes, garanhões, potros ao pé, potros desmamados e animais de esporte. Suas matrizes tinham entre 3 e 17 anos. Devido à atividade deste haras, que envolve transferência de embriões, algumas éguas utilizadas nesse estudo eram receptoras e, por isso, não foi possível determinar o número de partos das mesmas.

O haras 4 também era de tamanho intermediário e possuía infra-estrutura satisfatória. Possuía em torno de 40 animais, entre matrizes, garanhões, potros ao pé, potros desmamados e animais de esporte. Suas matrizes tinham entre 4 e 15 anos. Devido à atividade deste haras, que envolve transferência de embriões, algumas éguas utilizadas nesse estudo eram receptoras e, por isso, não foi possível determinar o número de partos das mesmas.

#### **4.2 APARTAÇÃO DOS POTROS PARA A COLHEITA DE AMOSTRAS**

Foi esquematizado um rodízio para que houvesse sempre três éguas separadas dos potros permitindo assim que toda colheita fosse realizada entre duas e três horas após a apartação, tempo considerado suficiente para um bom enchimento do úbere sem haver perda do leite.

#### **4.3 PREPARAÇÃO PARA A COLHEITA DE AMOSTRAS**

A higienização dos tetos das éguas era feita a cada ordenha em duas fases: na primeira, era utilizada gaze embebida em álcool 70°GL, principalmente entre os tetos; na segunda, era utilizado papel-toalha também embebido em álcool 70°GL, principalmente nas regiões laterais da glândula mamária e nos tetos.

As mãos dos ordenhadores eram cuidadosamente lavadas com água e detergente neutro, secadas e depois higienizadas com *spray* de álcool 70°GL e posterior secagem com papel toalha também embebido em álcool 70°GL, a cada nova ordenha.

#### **4.4 FREQUÊNCIA E PRÁTICA DE ORDENHAS**

Cada égua foi ordenhada quinzenalmente até 120 dias após o parto, sendo a primeira ordenha entre o 15º e o 21º dias. Foram colhidas amostras de leite oriundo de ordenha completa, após desprezar os primeiros jatos.

#### **4.5 PREPARO E TRANSPORTE DAS AMOSTRAS**

Após a ordenha, a amostra era transferida para frasco de vidro escuro, com capacidade para um litro. Neste recipiente, era feita a homogeneização do leite por agitação suave. Imediatamente, eram separadas três amostras em frascos plásticos com capacidade para 40mL: uma em frasco contendo bronopol, uma em frasco esterilizado contendo azidiol e uma em frasco esterilizado sem conservante. Todas as amostras, eram identificadas e transportadas, em caixa isotérmica contendo gelo reciclável, aos laboratórios do Centro de Pesquisa em Alimentos da Escola de Veterinária - UFG (CPA/EV/UFG) onde eram armazenadas e/ou processadas.

#### **4.6 ANÁLISES LABORATORIAIS**

O leite era analisado segundo metodologia descrita pelo Ministério da Agricultura, conforme citado abaixo.

##### **4.6.1 CONTAGEM CELULAR SOMÁTICA (CCS) POR CITOMETRIA DE FLUXO (MAPA, 2003)**

Princípio: Após ser automaticamente pipetada para o interior do equipamento, uma alíquota da amostra foi misturada aos reagentes (Dye 5000). As membranas das células somáticas se rompem, permitindo a coloração do DNA por brometo de etídio. O equipamento utilizado para a análise possui uma

lâmpada halógena que emite raios de luz azul que, ao incidirem sobre o DNA corado, provocam a emissão de pulsos de luz vermelha. Estes pulsos são ampliados, contados por um foto-multiplicador, multiplicados por um fator de correção, e então o equipamento expressa o resultado em cél./mL (FOSS, 2000).

Para esta análise utilizava-se 40ml de leite armazenado em frasco contendo o conservante bronopol. As amostras, conservadas sob refrigeração no CPA/EV/UFG, eram retiradas do refrigerador e mantidas em temperatura ambiente, posteriormente eram aquecidas em banho-maria à temperatura de 40°C, durante 15 minutos, de onde eram encaminhadas ao Fossomatic 5000 Basic® (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark) para a realização da contagem eletrônica de células somáticas.

#### **4.6.2 COMPOSIÇÃO PELO MÉTODO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (MAPA, 2003)**

Esta análise se baseia na absorção diferencial de ondas infravermelhas pelos diferentes componentes do leite. Princípio: após ser automaticamente pipetada para o interior do equipamento, uma alíquota da amostra é exposta a uma radiação infravermelha que possibilita determinar a concentração de cada componente físico-químico. A alíquota colhida pelo equipamento passa por um sistema óptico que mede a energia absorvida em um comprimento de onda específico da região infravermelha. Moléculas de gordura, proteína, lactose e demais componentes dos sólidos totais absorvem a luz infravermelha por diferenças estruturais das moléculas que vibram em comprimentos de onda característicos.

O processo para quantificar o componente requer a medida e o uso de dois comprimentos de onda: comprimento de referência e comprimento de leitura (medida). Para cada componente, as amostras são irradiadas no comprimento de onda de referência e no comprimento de onda de leitura. O equipamento emite então um feixe de luz sensitiva de radiação infravermelha, colhida por um detector. Os sinais são detectados e passados a uma placa do equipamento que converte a concentração do componente específico para percentuais através do

software gerenciador. Este calcula o resultado final comparando as medidas de referência com as medidas da amostra (FOSS, 2000).

Para esta análise utilizava-se 40ml de leite armazenado em frasco contendo o conservante bronopol. As amostras, conservadas sob refrigeração, eram retiradas do refrigerador e mantidas em temperatura ambiente, posteriormente eram aquecidas em banho-maria à temperatura de 40°C, durante 15 minutos, de onde eram encaminhadas ao Milkoscan 4000 (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark) para a realização da análise de composição.

#### **4.6.3 CONTAGEM BACTERIANA TOTAL PELO MÉTODO DE CITOMETRIA DE FLUXO (MAPA, 2003)**

Esta análise baseia-se na citometria de fluxo. Princípio: Após ser automaticamente pipetada para o interior do equipamento, uma porção de líquido cuja função é lisar as micelas de caseína e de líquido detergente que lisa as células somáticas sem, portanto, lisar as bactérias são adicionadas à amostra de leite, uma alíquota desta amostra é incubada a 40°C por 3 minutos. A amostra então é lentamente transferida para uma centrífuga de alta velocidade, devido à grande força centrífuga existente, estas bactérias se movem para o interior do gradiente, enquanto os componentes menos densos do leite como a caseína solubilizada, glóbulos de gordura e debris celulares permanecem na superfície do gradiente. Após lavagem da camada mais interna do gradiente com líquido de enxágüe para remover excessos de gordura do leite, etc., a mistura contendo bactérias é filtrada para remover grandes partículas não bacterianas. O processo de purificação dura aproximadamente 3 minutos e ocorre na presença de reação enzimática a 40°C, que dissolve as partículas protéicas remanescentes.

Ao final da incubação um líquido corante contendo Acridine laranja é adicionado à amostra. Então esta suspensão contendo bactéria é transferida via microseringa como um filme fino na ponta de um disco rotativo. O filme passa embaixo da objetiva de um microscópio equipado com uma lâmpada de xenônio e um fotodetector de quatro canais.

Os pulsos das bactérias mortas são processados e contados de acordo com o pulso luminoso e finalmente o resultado é apresentado no monitor equivalente ao número de bactérias por microlitros de leite. Empregando um fator de correção, o equipamento fornece o resultado em UFC/mL (FOSS, 2000)

Para a realização desta análise era utilizada a amostra de 40mL de leite armazenada em frasco plástico contendo azidiol. As amostras, conservadas sob refrigeração no CPA/EV/UFG, eram retiradas do refrigerador e mantidas em temperatura ambiente, para o início das análises. Utilizou-se o Bactoscan FC<sup>®</sup> (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark).

#### **4.6.4 DENSIDADE A 15°C MAPA (2003)**

Este método baseia-se na determinação da densidade relativa do leite, que é a relação entre sua massa volumétrica (densidade absoluta) e a da água, através de um flutuador denominado termolactodensímetro. Dado que a massa volumétrica de qualquer substância varia de acordo com a temperatura, é importante especificá-la quando se faz a sua aferição (AMIOT, 1991).

Para analisar cada amostra foram utilizados 250mL de leite que foram transferidos para a proveta de forma a evitar a incorporação de ar e formação de espuma. O termolactodensímetro, perfeitamente limpo e seco era introduzido lentamente na amostra de modo a flutuar sem encostar na borda da proveta, depois, levantando-o ligeiramente, procedia-se a secagem de sua haste com papel de filtro, de cima para baixo, em movimento giratório. Então, mergulhava-o novamente até próximo ao traço anteriormente observado. Esperava-se que a coluna de mercúrio e o termolactodensímetro se estabilizassem e realizava-se a leitura da densidade e da temperatura.

A temperatura ideal para este procedimento é de 15°C embora possa ser realizado em temperaturas entre 10 e 20°C. No caso de se utilizar uma temperatura diferente da ideal, o valor encontrado era convertido segundo uma tabela universal de conversão disponível no laboratório.

#### **4.6.5 DEPRESSÃO DO PONTO DE CONGELAMENTO DO LEITE PELO CRIOSCÓPIO ELETRÔNICO (MAPA, 2003)**

Fundamenta-se na modificação do ponto de congelamento em razão direta da concentração molecular dos solutos. A determinação do ponto de congelamento do leite pode ser feita através do crioscópio de Hortvet.

O crioscópio era calibrado previamente à rotina de análises. Para a análise, era colocado o equivalente a 2,5mL de leite em três tubos de vidro para proceder três determinações distintas. Após cada leitura, o sensor e o agitador eram higienizados cuidadosamente com água e secados delicadamente com papel absorvente fino. A partir das três leituras era calculada a média aritmética. Para tal cálculo, eram considerados apenas os resultados que estavam em acordo com os limites de tolerância de mais ou menos 2 miligraus de diferença. Utilizou-se crioscópio eletrônico digital **ITR-MK540**. Um grau Celsius (°C) equivale a 0,9656 grau Hortvet (H).

#### **4.6.6 DETERMINAÇÃO DO PH (MAPA, 2003)**

Eram depositados 10mL de leite em proveta de 100mL. A amostra era agitada por 30 segundos, antes da imersão do pHmetro, calibrado previamente com as soluções de referência pH 7,0 e pH 4,0 a 20°C. A leitura era feita a 20°C. Utilizou-se pHmetro LICIT.

#### **4.6.7 ACIDEZ TITULÁVEL (MAPA, 2003)**

Fundamenta-se na neutralização, até o ponto de equivalência, pelo hidróxido de sódio, na presença de indicador fenolftaleína.

Transferia-se 10mL da amostra homogeneizada para um béquer de 100mL e os diluía em 40mL de água livre de gás carbônico. Adicionava-se a esta

mistura, 5 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína a 1% e realizava-se a titulação com solução de hidróxido de sódio 0,1N até aparecimento de coloração levemente rósea persistente.

O resultado era obtido a partir da seguinte fórmula:

$$\text{Acidez titulável (\% ac. Láctico)} = (V \times f \times 0,09 \times N \times 100) / v$$

Onde:

V – volume da solução de hidróxido de sódio 0,1N gasto na titulação (mL);

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio 0,1N;

0,09 = fator de conversão do ácido láctico.

N = normalidade da solução de hidróxido de sódio (0,1).

v = volume da amostra (mL)

#### **4.7 DELINEAMENTO ESTATÍSTICO**

Os dados foram enquadrados em delineamento inteiramente casualizado e submetido à análise de variância pelo Teste F e os resultados entre haras foram comparados pelo teste de Duncan com significância de 1% e 5% (CENTENO, 1990).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 RESULTADOS DE COMPOSIÇÃO, CCS E CBT

Os resultados da análise de variância para a qualidade do leite de éguas da raça Mangalarga Marchador utilizadas neste estudo, a partir do modelo de delineamento inteiramente casualizado, para as variáveis Proteína (PRO), Lactose (LAC), Gordura (GOR), Extrato Seco Total (EST), Extrato Seco Desengordurado (ESD), realizadas pela metodologia eletrônica do infravermelho próximo, Contagem de Células Somáticas (CCS) e Contagem Bacteriana Total (CBT) realizados por citometria de fluxo, para a comparação entre haras, estão apresentados na Tabela 1, abaixo.

TABELA 1. Análise de variância das variáveis proteína (PRO), lactose (LAC), gordura (GOR), extrato seco total (EST), extrato seco desengordurado (ESD), contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) medidas, pela metodologia eletrônica, a partir de leite de éguas Mangalarga Marchador oriundas de quatro diferentes haras localizados no raio de 120km de distância de Goiânia.

FV	GL	Quadrado Médio						
		PRO	GOR	LAC	EST	ESD	CCS	CBT
Haras	3	0,753 <sup>**</sup>	0,317 <sup>**</sup>	0,320 <sup>**</sup>	0,457 <sup>*</sup>	0,423 <sup>**</sup>	1,14x10 <sup>-9</sup>	4,57x10 <sup>-8</sup>
Resíduo	253	0,085	0,117	0,610	0,164	0,064	7,83x10 <sup>-8</sup>	2,17x10 <sup>-8</sup>
CV (%)		14,57	54,38	3,76	3,90	2,61	170,53	119,59
X <sub>G</sub>		2,00	0,63	6,57	10,37	9,74	1,64x10 <sup>4</sup>	1,23x10 <sup>4</sup>

FV: Fonte de variação; GL: Grau de liberdade; CV: Coeficiente de variação; X<sub>G</sub>: Média geral de todas as observações; \* e \*\*: Significativos a 5% e 1% respectivamente.

Observa-se na Tabela 1 acima que não houve diferença significativa para as variáveis CCS e CBT entre os haras. Isto indica que éguas saudáveis apresentam proporcionalmente pouca variação para o teor de CCS. Também indica que a ordenha seguiu o mesmo padrão de higiene em todos os haras no decorrer da pesquisa e resultou em um padrão de CBT similar para os haras.

Nota-se na Tabela 1, que houve diferença significativa entre haras quando as variáveis analisadas foram a proteína, gordura, lactose, EST e ESD

indicando que pode existir efeito ambiental ou variação genética entre os animais. Este achado pode ser considerado de grande relevância uma vez que a existência de diversidade genética entre animais é extremamente importante no aproveitamento para seleção de animais com melhor qualidade de leite.

Observa-se na Tabela 1 as médias gerais da composição e da qualidade sanitária do leite para os quatro haras analisados. A média da proteína foi de 2,00%, para a gordura observa-se um valor de 0,63% e para a lactose, 6,57%. O EST e o ESD foram respectivamente 10,37% e 9,74%. Além disso, a CCS teve um valor médio de  $1,64 \times 10^4$  cél./mL e a CBT de  $1,23 \times 10^4$  UFC/mL.

A média da concentração de proteína encontrada neste estudo se assemelha aos dados de vários autores (ULLREY et al., 1966; OFTEDAL et al., 1983; MORAIS et al., 1999; SANTOS et al., 2005). Esta proximidade dos valores encontrados mostra que a proteína apresenta um padrão semelhante no leite das diversas raças estudadas e que, semelhantemente a outras raças eqüinas, do ponto de vista da concentração de proteínas, o leite de éguas Mangalarga Marchador, é interessante para a utilização na alimentação de crianças, conforme explicitaram BUSINCO et al. (2000).

A média encontrada para a gordura neste estudo foi inferior às médias encontradas por ULLREY et al. (1966) e OFTEDAL et al. (1983). Entretanto, está próxima à encontrada por MORAIS et al. (1999) e SANTOS et al. (2005).

A explicação para este fato, de acordo com DAVISON et al. (1987) pode residir na alimentação. O ambiente, segundo DOREAU & BOULOT (1989) também pode influenciar pois as éguas utilizadas nos estudos de ULLREY et al. (1966) e OFTEDAL et al. (1983) recebiam alimentação balanceada e de excelente qualidade além de estarem em uma região de clima frio. Já as éguas utilizadas no estudo de MORAIS et al. (1999) bem como no presente estudo eram oriundas de um mesmo Estado, portanto, clima e manejo bastante semelhantes entre si, além de alimentação baseada principalmente em forrageira, nem sempre de boa qualidade, com pequena suplementação de concentrado sem controle de qualidade em apenas alguns haras. Já no estudo de SANTOS et al. (2005), em que foram também utilizadas éguas Mangalarga Marchador, a média da

concentração de gordura, apesar de próxima à encontrada no presente estudo, foi ligeiramente superior, esta pequena diferença pode ser devida à alimentação ou efeito do indivíduo (SMOLDERS et al., 1990).

A busca atual de alimentos *light* fazem do leite de égua desejável à alimentação humana, logo, o leite de éguas Mangalarga Marchador do entorno de Goiânia também se enquadra neste perfil por apresentar baixa concentração de gordura (CSAPO et al., 1995). Estudos sobre o perfil de ácidos graxos devem ser realizados na intenção de observar a sua proximidade ou não deste leite com das características desejáveis que KULISA (1986) citou em seu trabalho.

A média de 6,57% de lactose observada na Tabela 1, confirma a riqueza deste açúcar no leite eqüino e está em acordo com os trabalhos de OFTEDAL et al. (1983) e SANTOS et al. (2005). Este valor se encontra acima da média da concentração de lactose encontrada nos estudos de ULLREY et al. (1966) e MORAIS et al. (1999). Estas diferenças podem estar relacionadas ao efeito raça, contrariando MORAIS et al. (1999) que não encontrou diferença entre as duas raças utilizadas em seu trabalho. Também não se pode excluir, como fator de variação, a metodologia empregada nos diversos estudos.

A alta concentração de lactose encontrada é interessante para a utilização do leite equino na dieta de crianças pois, além de aumentar a palatabilidade, estimula a absorção intestinal de cálcio, o que pode representar um fator favorável à calcificação dos ossos durante os primeiros meses de vida (BUSINCO et al., 2000). Entretanto, é importante alertar para a necessidade de evitar o seu uso em pessoas que possuem intolerância à lactose, uma vez que não foram encontrados estudos que relacionam esta patologia ao uso do leite eqüino.

A média para o EST foi de 10,37%, este resultado está de acordo com os valores médios encontrados por PAGAN & HINTZ et al. (1986), mas é superior aos valores encontrados por OFTEDAL et al. (1983) e SUMMER et al. (2000) e inferior aos dados de MORAIS et al. (1999). Novamente, a alimentação pode estar envolvida pois, como PAGAN & HINTZ (1986) relataram, o aumento da energia na dieta pode reduzir o EST do leite. As diferentes metodologias também podem estar incriminadas.

O valor médio do ESD (9,47%) foi ligeiramente superior aos valores encontrados por ULLREY et al. (1966); OFTEDAL et al (1983); PAGAN & HINTZ (1986) e MORAIS et al. (1999), provavelmente, devido à menor concentração de gordura encontrada no presente estudo.

A média da CCS encontrada neste estudo revelou que o padrão para esta variável, medido em éguas Mangalarga Marchador, no Estado de Goiás, está próximo ao valor encontrado por ZOEGER VON MANTEUFFEL (1989) e RIELAND (1997) para o leite maduro, mas muito inferior aos valores encontrados por OKADA (1960), USTINOWA et al. (1982); RIOS et al. (1989); BLÖMER (1990); PRESTES et al. (1999); e TIEZTE et al. (2001) e superior aos valores citados por outros autores (REMBALSKI, 1979; NASSAL & REMBALSKI, 1980; BARTMANN et al., 1996 e HANS, 2000), citados por JACOBS (2004).

Sabe-se que RIOS et al. (1989), BLÖMER (1990) e PRESTES et al. (1999) obtiveram culturas bacterianas positivas a partir do leite de algumas éguas clinicamente saudáveis, se for considerada a patogênese da mastite para o bovino, segundo MACHADO et al. (1999), este fato explica a alta CCS destes estudos.

Pode-se afirmar que a CCS encontrada no presente estudo está dentro do limite máximo sugerido por von BOSTEDT (1994) e MIELKE (1994) –  $7,6 \times 10^4$  cél./mL – citados por JACOBS (2004) e também dentro do padrão geral de normalidade sugerido por JACOBS (2004) de  $1,0 \times 10^5$  cél./mL.

A média da CBT encontrada neste estudo revela uma baixa contaminação do leite. Este resultado, de acordo com BRITO (1995), foi obtido devido higiene e padronização da ordenha durante todo o estudo. Portanto, não deve apresentar riscos à saúde do consumidor e deve possuir longa vida de prateleira.

A literatura é escassa em relação a valores de CBT para leite de égua. Portanto, NEUHAUS (1961) que obteve resultados inferiores aos do presente estudo. A forma como o autor procedeu à ordenha não foi explicitada.

O azidiol, conservante utilizado neste estudo demonstrou ser um bom conservante para o leite eqüino, pois manteve praticamente inalterada a CBT do mesmo. No estudo de BLÖMER (1990) ficou nítida a ocorrência de ligeira redução do número de bactérias no leite conservado com o conservante (Ly20)

em relação ao leite analisado nas primeiras duas horas após a ordenha ou mesmo congelado a baixas temperaturas. O não conhecimento da base química do conservante utilizado pelo autor não permite tecer considerações sobre sua afirmação, mas seu trabalho alerta para a necessidade de realizar estudos a fim de determinar a eficiência de um conservante para o leite equino.

Analisando a Tabela 2 verifica-se que houve diferença significativa para as variáveis proteína, gordura, extrato seco total e extrato seco desengordurado, quando os quatro haras foram comparados. Esta diferença pode ser devida a fatores ambientais ou de manejo.

TABELA 2. Médias das variáveis proteína (PRO), lactose (LAC), gordura (GOR), extrato seco total (EST), extrato seco desengordurado (ESD), contagem de células somáticas (CCS) e bacteriana total (CBT) de leite de éguas Mangalarga Marchador de quatro diferentes haras localizados no raio de 120km de distância de Goiânia.

Haras	VARIÁVEIS						
	PRO	GOR	LAC	EST	ESD	CCS	CBT
1	1,87 a	0,59 ab	6,59 a	10,22 a	9,64 a	1,59 x 10 <sup>4</sup> a	1,43 x 10 <sup>4</sup> a
2	2,08 b	0,66 ab	6,48 a	10,37 b	9,71 ac	1,13 x 10 <sup>4</sup> a	9,21 x 10 <sup>3</sup> a
3	2,09 b	0,54 b	6,60 a	10,39 b	9,85 b	1,91 x 10 <sup>4</sup> a	1.20 x 10 <sup>4</sup> a
4	1,91 a	0,69 a	6,62 a	10,42 b	9,74 c	2,0 x 10 <sup>4</sup> a	1,48 x 10 <sup>4</sup> a

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si (Duncan, 5%).

Verifica-se também na Tabela 2 que as variáveis lactose, CCS e CBT, apresentaram comportamento semelhante entre os quatro haras estudados. Este comportamento para a lactose, provavelmente se deve à ausência de efeito do fator individual, como sugerido por OFTEDAL et al. (1983) e também, à pouca interferência da alimentação (PAGAN & HINTZ, 1986) em sua concentração. Apesar de não haver diferença significativa para esta variável entre os haras, observou-se a maior concentração no haras 4 que, coincidentemente, por motivo técnicos, teve o menor número de éguas submetidas a coletas até 30 dias de lactação, proporcionalmente às demais ordenhas realizadas em cada animal. Isto pode explicar em parte esta média ligeiramente superior, uma vez que, segundo ULLREY (1966), à medida que a lactação avança, a concentração de lactose aumenta.

A inexistência de diferença significativa para a CBT demonstra a padronização de uma boa higiene de ordenha (BRITO, 1995) em todos os haras, além de uma situação de higiene semelhante do local de trabalho entre os haras. Percebe-se que a menor CBT, apesar de não diferir significativamente da CBT de outros haras, ocorreu no Haras 2 que possuía uma área limpa, arejada e com menor trânsito de outros animais durante a realização das ordenhas. Isto sugere que, além da necessidade da realização de uma ordenha higiênica, é necessário que o ambiente de trabalho também seja o mais limpo possível para a obtenção de um produto menos contaminado.

O comportamento semelhante para a CCS nos diferentes haras indica a possibilidade de que, em geral, os animais utilizados tenham apresentado glândulas mamárias saudáveis durante todo o estudo (POUTREL, 1985) e confirma os resultados encontrados na Tabela 1 de que o padrão da CCS foi semelhante para todos os haras. Além disso, demonstra que a CCS média das éguas Mangalarga Marchador do Estado de Goiás, está em acordo com os padrões de normalidade sugeridos por JACOBS (2004).

Relativamente às análises físico-químicas que apresentaram variações entre haras (Tabela 2) acredita-se que a diferença entre as médias de proteína pode ser explicada pela alimentação (DOREAU et al., 1990) e por possíveis efeitos individuais descritos por SMOLDERS et al. (1990). Neste caso, os leites dos haras que possuem menor concentração de proteína (H1 e H4) apresentaram características semelhantes às descritas na literatura. No haras 1, as éguas se alimentavam apenas de forrageira que, em boa parte do tempo, apresentou qualidade insatisfatória. MARIANI et al. (2001) afirmaram que a alimentação baseada somente em pastagem pode reduzir a concentração de proteína do leite. O haras 4 também apresentou baixa concentração de proteína no leite. A alimentação de suas éguas era baseada em forrageira e suplementação diária de milho grão. A associação da qualidade insatisfatória da forrageira em período considerável do estudo, aliada ao maior fornecimento de energia através da suplementação com milho parece ter sido a causa desta baixa concentração de proteína neste haras (PAGAN & HINTZ, 1986; DOREAU et al., 1990; MARIANI et al. 2001) . Além disso, para o haras 4, o estágio da lactação

em que as amostras foram colhidas de algumas éguas pode ter contribuído para este resultado (CSAPO et al., 1995).

A explicação para a maior concentração de proteína para os haras 2 e 3 também parece estar ligada à alimentação. No haras 2 havia, durante todo o estudo, pastagem de qualidade superior, recém formada, para todas as éguas no início da lactação e para a maioria delas durante toda a lactação. As demais éguas, apesar de terem mudado de pasto, continuavam tendo acesso a forrageira de boa qualidade e em quantidade suficiente até o final da lactação, além de boa suplementação. Apesar deste resultado contrariar MARIANI et al. (2001), acredita-se que uma qualidade tão superior na alimentação dos animais deste haras possa constituir uma boa explicação para esta superioridade no nível de proteína. Já para o haras 3 a explicação não se relaciona à qualidade da forrageira oferecida, satisfatória em boa parte do tempo para a maioria das éguas, mas pelo fornecimento de concentrado contendo 13% de proteína.

Apesar de DOREAU et al. (1989) terem encontrado informações controversas sobre a influência da ingestão de nitrogênio na concentração de proteína do leite eqüino, esta parece ser a explicação mais plausível para esta maior concentração de proteína nos haras 2 e 3 e pode indicar a necessidade de correções de solo periódicas, de utilização de forrageiras de boa qualidade e boa aceitação pela espécie equina, além de indicar que uma suplementação com concentrado balanceado pode ser útil tanto na manutenção do escore corporal das éguas quanto na qualidade do leite.

O leite proveniente do haras 3 apresentou o menor índice de gordura. O haras 4 apresentou o maior índice e suas éguas eram suplementadas com milho, este fato contraria PAGAN & HINTZ (1986) quando sugeriram que o aumento da energia na dieta pelo acréscimo de milho provoca uma redução na concentração de gordura do leite, provavelmente pelo aumento na quantidade de leite produzida. No presente estudo não foi medido o volume de leite produzido pelas éguas e, portanto, não se sabe se o volume produzido foi aumentado.

Potanto, as explicações para estas diferenças na concentração de gordura entre haras ficaram prejudicadas. Estudos que relacionam alimentação à concentração de gordura no leite devem ser realizados para maiores

esclarecimentos, uma vez que no bovino, esta é a variável mais facilmente manipulável pelo efeito da alimentação.

Para o EST observou-se que o haras 1 foi o único que diferiu dos outros, logo,  $H1 \neq H2$ ,  $H3$  e  $H4$ ; e  $H2 = H3 = H4$ . O estágio da lactação pode ter sido o fator mais importante para esta diferença, pois o haras 1 possuía proporcionalmente o maior número de éguas cuja ordenha terminou antes da oitava coleta. Segundo ULLREY et al. (1966), o EST diminui à medida que a lactação avança. Além disso, ocorreu a eliminação de uma égua do estudo ainda na segunda ordenha, ou seja, antes do decréscimo do valor do EST.

A idade das éguas do haras 1 também pode ter influenciado pois este foi o único haras cuja população de matrizes, em sua grande maioria, tinha acima de 13 anos.

O ESD está ligado à combinação entre o EST e o teor de gordura no leite. Desta forma, a combinação final resultou na seguinte constatação:  $H1 \neq H3$  e  $H4$ ;  $H2 = H1$  e  $H4$ ;  $H2 \neq H3$ . Para esta variável, o menor resultado encontrado foi no haras 1, o que se explica pelo fato deste haras ter alcançado também o menor EST aliado à alta concentração de gordura. O maior valor de ESD foi encontrado no leite do haras 3 por este haras ter alcançado o menor teor de gordura. Os valores de ESD encontrados em cada haras estão bastante próximos aos resultados encontrados por PAGAN & HINTZ (1986) e MORAIS et al. (1999).

Em relação às Tabelas 3 e 4 nota-se que todos os dados da Tabela 2 são avaliados detalhadamente, dentro dos haras, com o intuito de verificar se a alimentação, manejo ou indivíduo influenciou as variáveis de composição e de qualidade sanitária do leite das éguas.

TABELA 3. Comparação entre os resultados analíticos médios de leite de éguas Mangalarga Marchador para as variáveis de composição - proteína (PRO), lactose (LAC), gordura (GOR), extrato seco total (EST) e extrato seco desengordurado (ESD) – e variáveis de qualidade biológica do leite – contagem celular somática (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) – Goiânia – GO, 2005.

FV	GL	Quadrado Médio						
		PRO	GOR	LAC	EST	ESD	CCS	CBT
<b>Haras 1</b>								
Éguas	5	0,3035	0,1489	0,0581	0,3595	0,1385	$3,78 \times 10^{-8}$	$1,64 \times 10^{-8}$
Resíduo	40	0,0928	0,0322	0,0392	0,0753	0,0541	$9,37 \times 10^{-7}$	$1,88 \times 10^{-8}$
CV (%)		16,28	30,38	30,38	2,68	2,41	60,78	95,85
$\bar{X}_G$		<b>1,87</b>	<b>0,59</b>	<b>0,59</b>	<b>10,22</b>	<b>9,64</b>	<b><math>1,59 \times 10^4</math></b>	<b><math>1,4 \times 10^4</math></b>
<b>Haras 2</b>								
Éguas	8	0,0638	0,4565	0,0773	0,2542	0,3087	$7,37 \times 10^{-7}$	$1,01 \times 10^{-8}$
Resíduo	69	0,1113	0,491	0,0593	0,1139	0,0659	$8,95 \times 10^{-7}$	$1,03 \times 10^{-8}$
CV (%)		16,03	33,51	3,76	3,25	2,64	83,88	110,66
$\bar{X}_G$		<b>2,08</b>	<b>0,6614</b>	<b>6,47</b>	<b>10,37</b>	<b>9,71</b>	<b><math>1,13 \times 10^4</math></b>	<b><math>9,21 \times 10^3</math></b>
<b>Haras 3</b>								
Éguas	7	0,2401	0,3160	0,2421	0,5634	0,2978	$6,72 \times 10^{-8}$	$1,18 \times 10^{-8}$
Resíduo	56	0,0566	0,0400	0,0658	0,0694	0,0367	$3,12 \times 10^{-8}$	$2,64 \times 10^{-8}$
CV (%)		11,37	36,84	36,84	2,53	1,94	92,58	135,29
$\bar{X}_G$		<b>2,09</b>	<b>0,54</b>	<b>0,54</b>	<b>10,39</b>	<b>9,85</b>	<b><math>1,91 \times 10^3</math></b>	<b>12010,23</b>
<b>Haras 4</b>								
Éguas	7	0,0453	0,4891	0,0704	0,7578	0,1381	$4,74 \times 10^{-9}$	$1,99 \times 10^{-8}$
Resíduo	61	0,0487	0,2077	0,0490	0,2218	0,0223	$2,13 \times 10^{-9}$	$3,55 \times 10^{-8}$
CV (%)		11,50	65,28	3,34	4,51	1,53	230,73	126,85
$\bar{X}_G$		<b>1,91</b>	<b>0,69</b>	<b>6,62</b>	<b>10,44</b>	<b>9,74</b>	<b><math>2,00 \times 10^4</math></b>	<b><math>1,49 \times 10^4</math></b>

FV: Fonte de variação; GL: Grau de liberdade; CV: Coeficiente de variação;  $\bar{X}_G$ : Média geral de todas as observações; \* e \*\*: Significativos a 5% e 1% respectivamente.

Como pode ser observado na Tabela 3, houve variação significativa a níveis de significância de 1 e 5% para a maioria das variáveis nos diferentes haras. Isto indica que houve variação entre as éguas ou indivíduos. Esta variação, em alguns casos, parece sofrer influência do indivíduo, da alimentação e do ambiente.

O leite do haras 1 apresentou variações significativas nos resultados analíticos entre éguas a 1% de significância para gordura, EST e CCS e a 5% de significância para proteína e ESD. O haras 2 apresentou variações a 1% de significância para gordura, EST e ESD. As variáveis que foram significativamente diferentes a 1% de significância para o haras 3 foram: proteína, lactose, gordura e EST. No haras 4 EST e ESD apresentaram diferença significativa a 1% de significância e gordura e CCS a uma significância de 5%.

A análise dos dados contidos na Tabela 4, permite explicar em parte algumas causas destas variações.

TABELA 4. Médias individuais das variáveis proteína (PRO), lactose (LAC), gordura (GOR), extrato seco total (EST), extrato seco desengordurado (ESD), contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) de leite de éguas Mangalarga Marchador, Goiânia – GO, 2005.

Éguas	Variáveis						
	PRO	GOR	LAC	EST	ESD	CCS	CBT
<b>Haras 1</b>							
1	1,99 a	0,66 ab	6,55 a	10,44 ab	9,77 ab	1,87x10 <sup>4</sup> ab	1,66x10 <sup>4</sup> a
2	1,71 a	0,44 bc	6,60 a	10,04 c	9,63 ab	6,13x10 <sup>3</sup> b	1,55x10 <sup>4</sup> a
3	2,58 b	0,71 a	6,28 b	10,64 a	9,92 a	3,45x10 <sup>4</sup> c	6,00x10 <sup>3</sup> a
4	1,84 a	0,62 abc	6,67 a	10,29 bc	9,66 ab	1,50x10 <sup>4</sup> ab	1,97x10 <sup>4</sup> a
5	1,83 a	0,42 c	6,61 a	9,93 c	9,50 b	1,94x10 <sup>4</sup> a	7,90x10 <sup>3</sup> a
6	1,78 a	0,77 a	6,62 a	10,24 bc	9,46b	1,84x10 <sup>4</sup> ab	1,12x10 <sup>4</sup> a
<b>Haras 2</b>							
1	2,22 a	0,64 ab	6,46 a	10,52 ab	9,82 abc	1,16x10 <sup>4</sup> a	1,56x10 <sup>4</sup> a
2	1,95 a	0,89 cd	6,40 a	10,47 ab	9,56 bcd	1,30x10 <sup>4</sup> a	1,05x10 <sup>4</sup> a
3	2,06 a	0,50 be	6,60 a	10,37 ab	9,91 ab	1,19x10 <sup>4</sup> a	8,30x10 <sup>3</sup> a
4	2,17 a	1,10 c	6,37 a	10,77 a	9,67 bcd	1,33x10 <sup>4</sup> a	9,24x10 <sup>3</sup> a
5	2,12 a	0,36 e	6,58 a	10,26 b	9,98 a	1,23x10 <sup>4</sup> a	4,79x10 <sup>3</sup> a
6	2,06 a	0,42 be	6,56 a	10,24 b	9,81 abc	9,07x10 <sup>3</sup> a	1,13x10 <sup>4</sup> a
7	2,11 a	0,56 abe	6,40 a	10,25 b	9,68 bcd	6,19x10 <sup>3</sup> a	3,62x10 <sup>3</sup> a
8	1,98 a	0,77 ad	6,37 a	10,24 b	9,47 d	7,96x10 <sup>3</sup> a	8,66x10 <sup>3</sup> a
9	2,04 a	0,79 ad	6,47 a	10,27 b	9,48 d	1,58x10 <sup>4</sup> a	9,37x10 <sup>3</sup> a
<b>Haras 3</b>							
1	1,93 a	0,44 abc	6,42 ab	10,00 a	9,55 a	1,29x10 <sup>4</sup> ab	1,16x10 <sup>4</sup> a
2	2,11 ab	0,62 ad	6,55 ac	10,43 bc	9,80 bc	1,79x10 <sup>4</sup> ab	1,02x10 <sup>4</sup> a
3	2,03 ab	0,53abd	6,63 ac	10,42 bc	9,88 be	1,89x10 <sup>4</sup> ab	2,03x10 <sup>4</sup> a
4	2,17 ab	0,55 abd	6,70 ac	10,62 cd	10,06 de	1,38x10 <sup>4</sup> ab	1,31x10 <sup>4</sup> a
5	1,99 a	0,27 c	6,84 c	10,25 ab	9,97 bde	2,01x10 <sup>4</sup> ab	1,32x10 <sup>4</sup> a
6	1,91 a	0,39 bc	6,68 ac	10,21 ab	9,82 bc	9,58x10 <sup>3</sup> b	9,08x10 <sup>3</sup> a
7	2,46 c	0,70 d	6,65 ac	10,84 d	10,13 d	3,19x10 <sup>4</sup> ac	8,77x10 <sup>3</sup> a
8	2,29 bc	1,01 e	6,23 b	10,66 cd	9,64 ac	4,09x10 <sup>4</sup> c	8,00x10 <sup>3</sup> a
<b>Haras 4</b>							
1	2,02 a	0,72 ab	6,45 a	10,40 ab	9,68 ab	7,00x10 <sup>3</sup> a	1,16x10 <sup>4</sup> a
2	1,97 a	0,59 b	6,76 b	10,57 abc	9,97 c	1,29x10 <sup>4</sup> a	1,27x10 <sup>4</sup> a
3	1,86 a	1,15 a	6,69 ab	10,97 c	9,81 a	1,42x10 <sup>4</sup> a	1,04x10 <sup>4</sup> a
4	1,88 a	0,90 ab	6,64 ab	10,65 ac	9,75 ab	7,30x10 <sup>4</sup> b	1,83x10 <sup>4</sup> a
5	1,91 a	0,57 a	6,64 ab	10,35 ab	9,77 ab	1,21x10 <sup>4</sup> a	1,62x10 <sup>4</sup> a
6	2,02 a	0,77 ab	6,55 ab	10,42 ab	9,64 b	1,15x10 <sup>4</sup> a	2,55x10 <sup>4</sup> a
7	1,89 a	0,43 a	6,58 ab	10,05 b	9,62 b	1,02x10 <sup>4</sup> a	1,51x10 <sup>4</sup> a
8	1,81 a	0,50 a	6,59 ab	10,12 b	9,62 b	8,30x10 <sup>3</sup> a	1,03x10 <sup>4</sup> a

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si (Duncan, 5%).

Da análise dos dados da Tabela 4, pode-se compreender como cada égua contribuiu para o resultado da média geral dos haras (Tabela 1), para a média geral entre os haras (Tabela 2) e dentro dos haras (Tabela 3).

De forma geral, como pode ser observado na Tabela 3, a proteína apresentou um coeficiente de variação relativamente alto, indicando que existe influência ambiental e genética.

Os haras 2 e 4 apresentaram resultados homogêneos para esta variável. Isto se explica, em parte, devido à alimentação livre da concorrência observada nos outros dois haras. No haras 2, a alimentação consistia de forrageira de qualidade superior com disponibilidade *ad libitum* para todas as éguas e bom sal mineral. Desta forma, fatores como a concorrência e dominância ficaram praticamente eliminados e todas as éguas tiveram igual acesso à alimentação de boa qualidade. No haras 4, a forrageira não era satisfatória quantitativamente e qualitativamente durante todo o estudo, mas houve a suplementação com milho, esta suplementação era realizada de forma individual, em cochos fechados, o que também diminuía a concorrência. Portanto, nestes dois haras o efeito indivíduo e alimentação não exerceram influência como fonte de variação.

No haras 1 foi encontrada a menor concentração de proteína. Além do fator alimentação, um fato interessante merece destaque: a égua que apresentou a maior média de proteína, a de número 3, foi retirada do estudo por motivos de ordem reprodutiva já na segunda ordenha após o parto. Este fato, de acordo com CSAPO et al., (1995), pode ter sido o único motivo pelo qual esta égua apresentou uma concentração de proteína mais alta do que as demais.

No haras 3 verificou-se a maior concentração de proteína. Além dos fatores já citados que influenciam na variação desse componente, na Tabela 6 observam-se dados relativos ao efeito individual. A égua 7 apresentou a maior concentração de proteína no leite e isto deve-se ao efeito do indivíduo, uma vez que este animal égua era de porte avantajado e não perdeu peso no decorrer da pesquisa. Neste aspecto, comportou-se de forma diferente em relação às suas companheiras - mostrando que provavelmente tinha um melhor metabolismo da alimentação que recebia e, possivelmente, convertia melhor o alimento em nutrientes para o leite.

As menores concentrações de proteína no haras 3 foram encontradas no leite das éguas 1, 5 e 6. Estas éguas apresentaram o menor escore corporal do haras. A égua 1 pariu aos 3 anos recém completados e, em boa parte do estudo estava em pasto com forrageira escassa e de má qualidade, indicando que animais ainda em fase de crescimento podem apresentar maior dificuldade em converter alimento em leite. A égua 6 era a mais velha do haras , 17 anos, e perdeu muito peso durante o estudo. A égua 5 também fazia parte das éguas de menor escore corporal do haras. Estes achados sugerem a influência da qualidade da alimentação recebida e a da idade dos animais. A possibilidade de haver efeito do estresse para esta variável fica aparentemente descartada e confirma a afirmação de SMOLDERS et al. (1990). Estes resultados sugerem que animais muito velhos, em fase de crescimento e mal alimentados podem ter maior dificuldade em concentrar proteínas no leite.

A pequena variação entre os limites máximos e mínimos de lactose (Tabela 4) sugere a estabilidade da variável. Observando atentamente as Tabelas 3 e 4 nota-se que apenas no haras 3 houve diferença significativa entre os animais. Essas diferenças ocorreram a conta das éguas 5 (maior concentração) e 8 (menor concentração). A concentração da lactose para as éguas 5 e 8 pode ter sido resultado do efeito do indivíduo, contrariando, neste aspecto, OFTEDAL et al. (1983), que não encontraram este efeito para a lactose.

Verifica-se na Tabela 3 que houve diferença significativa entre os valores de concentração de gordura entre os haras. Ao analisar a Tabela 4, nota-se que no haras 1, a égua de número 3 apresentou diferença significativa para as demais, sendo semelhante apenas à égua 6, situada no patamar mais alto de concentração de gordura. A explicação para tal concentração no leite da égua 3 está no estágio de lactação, uma vez que este animal saiu do estudo já na segunda ordenha, portanto os níveis de gordura em seu leite ainda estavam elevados. Esse achado é corroborado por (ULLREY et al., 1966; SANTOS et al., 2005).

A égua de número 6 que também apresentou alta concentração de gordura, apresentou uma única ordenha com a gordura anormalmente elevada, não ficando evidenciada a causa desta elevação. A égua de menor concentração de gordura neste haras era a mais estressada, este fato, de acordo com

(SMOLDERS et al. 1990) pode ter influenciado na baixa concentração de gordura devido ao mal aproveitamento de seu leite residual.

No haras 2, a grande diversidade entre as concentrações individuais pode ser devida à diversidade de fontes de nutrientes (DAVISON et al., 1987) e ambiente (DOREAU & BOULOT, 1989), pois, as éguas deste haras foram apascentadas em três pastos diferentes, com forrageiras diferentes e com manejos diferenciados. Apesar de não ter ficado evidente, parece haver uma tendência ao leite de éguas alimentadas unicamente em Tifton ser ligeiramente menos concentrado em gordura, além disso, parece que houve forte efeito individual para esta variável neste haras, uma vez que a sua população era a mais variada de todos devido ao grande comércio de animais.

No haras 3, a égua 8 apresentou maior concentração de gordura no leite, sugerindo a existência de efeito individual para esta variável. A menor concentração, ficou a cargo da égua 5 sugerindo que, devido ao seu baixo escore corporal, esta égua pode ter tido dificuldades para concentrar a gordura no leite. O fortalecimento para esta hipótese vem do fato de que as outras duas éguas que apresentaram menor escore corporal no haras, também apresentaram baixas concentrações de gordura no leite.

No haras 4 observou-se que a égua 3 apresentou o mais alto nível de gordura do estudo, esta foi uma constante durante toda a lactação, o que aponta para a influência do efeito individual nesta variável.

Verifica-se ainda na Tabela 3, que o EST apresentou variação significativa em todos os haras, isto se deve, às diversas interações entre todas as variáveis que podem influenciar em seu valor (proteína, gordura, lactose, minerais).

Observando individualmente, no haras 1, o maior valor para EST foi encontrado para a égua 3 que saiu precocemente do estudo. Isto sugere que esta variável também é influenciada pelo estágio da lactação (ULLREY et al., 1966). A menor concentração de EST foi encontrada no leite da égua 5. A baixa concentração do EST desta égua foi constante durante todo o experimento e, anormal, apenas em determinado período da lactação que coincidiu com a época de pior alimentação. O fato desse haras ter apresentado o menor EST entre todos (Tabela 3), sugere a influência do fator alimentação nesta variável.

Em relação ao haras 2, a análise dos dados sugere que o efeito de indivíduo e de alimentação influenciou no EST do leite. No haras 3, o menor EST ficou por conta da égua de número 1, indicando que a combinação de todas as demais variáveis, geradas pela alimentação e escore corporal insatisfatórios levaram também ao baixo EST. A maior concentração desta variável, ficou a cargo da égua 7, levando à indicação de haver efeito do indivíduo para tal variável.

No haras 4, a grande variação não pôde ser explicada, mas parece haver efeito individual, pois a égua 3 apresentou concentração de gordura significativamente superior às demais éguas.

O ESD é o resultado da combinação de EST e gordura, logo, não será mais discutido nesta seção.

Para a variável CCS, o haras 2 apresentou os resultados mais homogêneos entre os animais, todas as éguas apresentam CCS significativamente semelhantes. O haras 4 também apresentou CCS bastante homogênea, sendo apenas uma égua diferente do grupo. Os Haras 3 e 1 foram bastante heterogêneos para esta variável.

A homogeneidade estatística e o valor reduzido da CCS no haras 2 pode ser, em parte, explicada pelo baixo nível de stress das éguas no momento da ordenha (COULON et al. 1996), pois o local da ordenha era reservado para a realização da atividade, praticamente sem trânsito de animais nas proximidades durante a ordenha e as éguas eram, em geral, mais calmas do que as do haras 3.

O resultado da CCS do haras 4 ficou ligeiramente prejudicado pelo alto valor encontrado para a égua 4. As éguas deste haras também eram bastante mansas e estavam acostumadas a serem separadas do potro durante o período da manhã enquanto recebiam a quantidade diária de milho, além disso, o trânsito de animais nas proximidades do local de ordenha existia, mas era reduzido e não muito próximo. Estes fatores reduzem o estresse durante o trabalho e podem ter influenciado a média geral de CCS para baixo, à exceção da égua 4 que apresentou CCS particularmente alta para os padrões de normalidade determinados por JACOBS (2004), -  $3,96 \times 10^5$  na sétima ordenha. Isto indica que este animal provavelmente tenha apresentado um quadro de mastite, mas

passou despercebido por não apresentar sinais característicos da doença durante a ordenha.

A declaração de COULON et al. (1996) de que o estresse está envolvido em alterações na CCS de bovinos parece se confirmar para as éguas do haras 3. Neste haras estavam os animais mais nervosos durante a ordenha e as médias individuais foram, em geral, as mais altas do estudo. Curiosamente, o leite da égua mais calma durante a ordenha (égua 6), apresentou a menor CCS deste haras e o leite da égua mais nervosa (7) apresentou a segunda maior contagem de células somáticas. A égua de maior CCS (égua 8) apresentou esta variável constantemente alta, sem entretanto, ultrapassar os limites da normalidade estipulados por JACOBS (2004). Porém, este animal apresentou características gerais do leite bastante diferentes da normalidade. Isto pode indicar um efeito de indivíduo para esta variável.

O haras 1 apresentou grande variação entre indivíduos para a CCS, entretanto, de uma maneira geral, assim como o haras 3, apresentou altos níveis de CCS. A maior contagem, mesmo que ainda perfeitamente dentro dos limites de normalidade estipulados por VON BOSTEDT (1994), MIELKE (1994) e JACOBS (2004), foi da égua 3. Este fato pode ser explicado por terem sido realizadas apenas duas ordenhas neste animal. As duas primeiras ordenhas (apesar de não estarem explicitadas neste estudo), apresentaram no geral, CCS mais altas do que durante o restante da lactação, provavelmente devido à transição final do colostro a leite maduro. Este fato sugere a existência de efeito do estágio da lactação para a CCS, como demonstraram os autores (RIOS et al. 1989; BLÖMER, 1990; RIELAND, 1997; HANS, 2000; citados por JACOBS, 2004).

No geral, as éguas do haras 1 eram calmas, à exceção da égua 5, que apresentou CCS significativamente superior às demais, indicando o fator estresse como causa de alteração na CCS. Merece destaque a observação de que a população deste haras era composta principalmente por éguas acima de 13 anos, o que sugere a influência da idade nesta variável. Estudos direcionados à CCS e aos fatores que a influenciam devem ser realizados no intuito de esclarecer melhor o comportamento deste parâmetro em leite equino.

Para a CBT, observou-se que não houve diferença significativa entre os animais, devido à manutenção do mesmo padrão de higiene de ordenha para todos haras.

## 5.2 FÍSICO-QUÍMICA

Os resultados da análise de variância para a qualidade do leite de éguas da raça Mangalarga Marchador, empregando o modelo de delineamento inteiramente casualizado, relativos às análises físico-químicas realizadas por métodos convencionais, estão apresentados na Tabela 5. As variáveis estudadas foram densidade (DEN), crioscopia (CRI), pH (pH) e acidez (ACI). Observa-se que houve diferença significativa para todas as variáveis, implicando na existência de diferença em relação aos aspectos físico-químicos do leite equino entre os quatro haras.

TABELA 5. Análise de variância das variáveis físico-químicas densidade (DEN), crioscopia (CRI), pH (pH) e acidez (ACI) de leite de éguas Mangalarga Marchador, Goiânia, GO, 2005.

FV	GL	Quadrado Médio			
		DEN	CRI	pH	ACI
Haras	3	0,000011**	0,002059**	0,325556**	12,7458**
Resíduo	240	0,000002	0,000223	0,055228	2,7424
CV (%)		0,13	2,74	3,29	34,96
X <sub>G</sub>		1,0341	-0,545	7,12	4,73

FV: Fonte de variação; GL: Grau de liberdade; CV: Coeficiente de variação; X<sub>G</sub>: Média geral de todas as observações; \* e \*\*: Significativos a 5% e 1% respectivamente.

A significância dos quadrados médios das fontes de variação entre haras para as variáveis densidade, crioscopia, pH e acidez indica que existe um efeito que pode ser ambiental ou devido à variação genética entre os animais (BRASIL, 1999).

As médias das variáveis físico-químicas do leite equino podem ser vistas na Tabela 5. Segundo a literatura, os fatores que levam a possíveis alterações na densidade são: a quantidade de água existente no leite, (BRASIL et al., 1999) e o estágio lactacional onde, a densidade cai bruscamente até 12 horas

após o parto e depois reduz mais lentamente nos próximos meses (ULLREY et al., 1966).

A densidade média encontrada neste estudo (1,0341) foi mais uma variável cujo resultado se aproximou dos estudos de MORAIS et al. (1999) e de ULLREY et al. (1966). Este resultado é ligeiramente diferente do encontrado por SUMMER et al. (2000), que permaneceu próximo a 1,035 no leite maduro, coletado de éguas que habitavam a Itália e se alimentavam de um misto de forrageira e leguminosa. No trabalho de SUMMER et al. (2000), o EST foi mais baixo do que o encontrado no presente estudo. Isto implica em menor densidade, logo, esta variável está condicionada aos mesmos fatores que influenciam as alterações no EST.

A média do índice crioscópico que pode ser observado na Tabela 5 foi de -0,545. Este resultado está próximo do encontrado por MORAIS et al. (1999) para éguas da raça Campolina. SUMMER et al. (2000), encontraram valores muito mais próximos de zero – variando entre -0,536 e -0,520. Devido a esta diferença, aliada à inferioridade na concentração de lactose verificada em estudos brasileiros em relação ao estudo de SUMMER et al. (2000), acredita-se que o teor em minerais seja também diferente entre estes estudos, uma vez que estas duas variáveis são as que mais contribuem na formação do índice crioscópico (BRASIL, et al. 1999). A explicação para tal diferença pode residir no efeito raça, encontrado por MORAIS et al. (1999).

Na Tabela 5 podem também ser observadas as médias de acidez (4,73) e pH (7,12). A acidez constitui a variável de maior amplitude entre os animais de uma mesma raça (BRITO, 1995) e isto, juntamente com a diversidade de dias em que as amostras foram manipuladas, pode explicar o grande coeficiente de variação encontrado neste estudo (Tabela 5). O baixo valor médio da acidez no leite eqüino pode ser explicado em grande parte pela baixa CBT - que implica em baixa atividade bacteriana – pela alta alcalinidade e baixa concentração de proteínas no leite eqüino. Todos estes fatores, somados ao ácido láctico e a fosfatos e citratos, de acordo com BRITO (1995) podem influenciar na acidez do leite.

Comparando-se os valores encontrados neste estudo com os de NEUHAUS (1961); MORAIS et al.(1999) e (SUMMER et al. 2000), pode-se

afirmar que a acidez é a variável que apresenta maior diferença entre os diversos estudos. A acidez de 4,73 encontrada no presente estudo é similar àquela encontrada por MORAIS et al.(1999) para éguas Quarto de Milha, entretanto, seus valores encontrados na literatura variaram de 1,8°D no estudo de NEUHAUS (1961), passando por 3,4°D (SUMMER et al. 2000) e até alcançar o valor máximo de 6,95°D no estudo de MORAIS et al. (1999) para leite maduro provenientes de glândulas mamárias saudáveis. Além da possível variação individual na composição do leite, existe a possibilidade de que o clima possa influenciar a acidez do leite permitindo ou evitando o rápido desenvolvimento bacteriano.

O pH médio de 7,12 observado neste estudo se aproxima do encontrado por NEUHAUS (1961) e SUMMER et al. (2000), sendo que o valor máximo encontrado por estes pesquisadores chegou a 7,11. Este resultado foi 0,4 pontos mais alto do que o pH encontrado por (CORDEIRO et al. 1998). A existência de significância para esta variável, indica que podem existir efeitos individuais – devido a diferenças na composição – e ambientais.

Observa-se na Tabela 6 os valores médios de cada haras para cada variável físico-química analisada.

TABELA 6: Médias das variáveis físico-químicas densidade (DEN), crioscopia (CRI), pH (PH), acidez (ACI), em leite de éguas Mangalarga Marchador de quatro haras, Goiânia, GO, 2005.

Haras	VARIÁVEIS			
	DEN	CRI	pH	ACI
1	1,0338 a	0,5397 a	7,2000 a	4,4053 a
2	1,0338 a	0,5421 a	7,0540 b	5,3284 b
3	1,0348 b	0,5536 b	7,1974 a	4,4592 a
4	1,0343 ab	0,5449 a	7,0863 b	4,5481 a

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si (Duncan, 5%)

Nota-se na Tabela 6 que a maior acidez encontrada para o haras 2 pode estar relacionada ao maior número de éguas utilizadas, à maior distância entre o haras e o laboratório e, portanto, maior tempo de armazenamento e maior tempo de exposição à temperatura ambiente deste leite até o momento da análise. De acordo com BRITO (1995) isto poderia aumentar a população e a

atividade bacteriana, aumentando a produção de ácido láctico e, conseqüentemente, a acidez do leite.

É necessária uma avaliação mais aprofundada para que estas variações sejam melhor entendidas. A análise das Tabelas 7 e 8 revela como cada haras e cada animal contribuíram para a composição final de cada variável.

Pode-se observar na Tabela 7, que nos haras 1 e 2 todos os animais apresentaram o mesmo comportamento para todas as variáveis, não diferindo significativamente entre si. Já no haras 3 observa-se o maior número de variáveis diferindo significativamente. No haras 4 apenas o índice crioscópico apresentou diferença significativa entre as éguas, provavelmente devido a fatores genéticos.

Analisando-se a Tabela 7, nota-se que houve grande homogeneidade nos resultados das análises de densidade, crioscopia e pH nos haras, caracterizadas pelo baixo coeficiente de variação medido.

TABELA 7: Comparação entre as variáveis físico-químicas – densidade (DEN), índice crioscópico (CRI) pH (pH) e acidez (ACI) do leite de éguas Mangalarga Marchador. Goiânia – GO, 2005.

FV	GL	Quadrado Médio			
		DEN	CRI	pH	ACI
<b>Haras 1</b>					
Éguas	4	2,69x10 <sup>-6</sup>	0,00026	0,09898	2,0743
Resíduo	30	3,07x10 <sup>-6</sup>	0,00012	0,10411	1,6800
CV (%)		0,17	2,02	4,48	29,42
$\bar{X}_G$		<b>1,0338</b>	<b>- 0,5397</b>	<b>7,20</b>	<b>4,40</b>
<b>Haras 2</b>					
Éguas	8	4,91x10 <sup>-6</sup>	0,00009	0,1236	3,6471
Resíduo	60	2,75x10 <sup>-6</sup>	0,00010	0,0674	3,4944
CV (%)		0,16	1,83	3,68	35,08
$\bar{X}_G$		<b>1,0338</b>	<b>- 0,5421</b>	<b>7,05</b>	<b>5,33</b>
<b>Haras 3</b>					
Éguas	7	1,90x10 <sup>-6</sup>	0,00179*	0,1760*	11,7044**
Resíduo	60	1,09x10 <sup>-6</sup>	0,00029	0,0211	2,5541
CV (%)		0,10	3,11	2,02	35,84
$\bar{X}_G$		<b>1,0348</b>	<b>- 0,5536</b>	<b>7,19</b>	<b>4,46</b>
<b>Haras 4</b>					
Éguas	7	8,20x10 <sup>-7</sup>	0,00074*	0,0263	1,5855
Resíduo	50	6,10x10 <sup>-7</sup>	0,00011	0,0264	1,7437
CV (%)		0,07	1,93	2,29	29,03
$\bar{X}_G$		<b>1,0343</b>	<b>- 0,5449</b>	<b>7,09</b>	<b>4,55</b>

FV: Fonte de variação; GL: Grau de liberdade; CV: Coeficiente de variação;  $\bar{X}_G$ : Média geral de todas as observações; \* e \*\*: Significativos a 5% e 1% respectivamente.

Como pode ser visto em BRASIL et al. (1999), a crioscopia é influenciada pela lactose e minerais contidos no leite. Esta informação possibilita explicar, em parte, as variações do índice crioscópico do leite dos quatro haras pois, como pode se observar na Tabela 3, a concentração de lactose destes haras também apresentou variação significativa.

O pH do leite do haras 3 também apresentou variação significativa. Segundo BRITO (1995), as proteínas juntamente com citratos e fosfatos podem interferir na acidez e logo, no pH do leite. A observação, a partir da Tabela 3, de que houve diferença significativa para a concentração de proteína no leite deste haras pode explicar, em parte, a variação também significativa do pH.

As médias de cada variável físico-química para cada égua podem ser vistas na Tabela 8. Verifica-se uma aproximação entre os valores encontrados para a composição do leite dos diversos animais. Apesar de algumas variáveis terem apresentado diferença significativa entre indivíduos, os seus valores médios foram bastante próximos.

TABELA 8: Médias das variáveis físico-químicas – densidade (DEN), índice crioscópico (CRI) pH (pH) e acidez (ACI) em leite de éguas Mangalarga Marchador. Goiânia, GO, 2005.

Éguas	Variáveis			
	DEN	CRI	PH	ACI
<b>Haras 1</b>				
1	1,0341 a	0,5477 a	7,25 a	5,03 a
2	1,0339 a	0,5420 a	7,33 a	4,25 a
3	1,0337 a	0,5371 a	7,14 a	4,27 a
4	1,0316 a	0,5338 a	7,15 a	3,61 a
5	1,0339 a	0,5347 a	7,00 a	4,58 a
<b>Haras 2</b>				
1	1,0350 a	0,5470 a	7,04 a	4,94 a
2	1,0336 a	0,5392 a	7,07 a	5,57 a
3	1,0346 a	0,5435 a	7,00 a	5,84 a
4	1,0333 a	0,5397 a	6,89 a	6,44 a
5	1,0357 a	0,5434 a	6,97 a	4,89 a
6	1,0349 a	0,5470 a	7,29 a	4,97 a
7	1,0344 a	0,5382 a	7,20 a	4,11 a
8	1,0330 a	0,5407 a	6,98 a	5,11 a
9	1,0328 a	0,5387 a	7,01 a	5,89 a
<b>Haras 3</b>				
1	1,0339 a	0,5304 a	7,07 ab	5,03 ab
2	1,0346 a	0,5597 b	7,27 c	4,12 a
3	1,0348 a	0,5552 b	7,34 c	3,46 a
4	1,0350 a	0,5550 b	7,19 ac	3,85 a
5	1,0354 a	0,5513 b	7,27 c	3,76 a
6	1,0345 a	0,5503 b	7,34 c	3,46 a
7	1,0358 a	0,5550 b	6,93 b	6,25 bc
8	1,0350 a	0,5935 c	6,99 b	7,12 c
<b>Haras 4</b>				
1	1,0341 a	0,5328 a	7,07 a	4,64 a
2	1,0348 a	0,5503 b	7,10 a	4,06 a
3	1,0339 a	0,5482 b	7,03 a	4,62 a
4	1,0344 a	0,5530 b	7,03 a	4,64 a
5	1,0346 a	0,5477 b	7,17 a	4,21 a
6	1,0344 a	0,5494 b	7,07 a	5,58 a
7	1,0342 a	0,5490 b	7,15 a	4,37 a
8	1,0339 a	0,5247 a	7,04 a	4,47 a

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si (Duncan, 5%).

À observação da Tabela 8, constata-se que a densidade parece não sofrer efeito indivíduo, alimentação, ou mesmo ambiente e confirma os resultados da Tabela 5 que não apresentaram diferença significativa para a densidade. A densidade constitui portanto uma boa técnica para a constatação de fraudes no leite eqüino, assim como no caprino, como descrito em (BRASIL et al., 1999).

O índice crioscópico foi bastante homogêneo entre os animais dos haras 1 e 2, já nos haras 3 e 4, apresentou diferença significativa. BRASIL et al (1999) cita que a crioscopia é dependente de outras duas variáveis, os níveis de lactose e de minerais contidos no leite. Este fato explica este comportamento pois, a homogeneidade da lactose para os haras 1 e 2 e heterogeneidade nos haras 3 e 4, como observado na Tabela 4, coincidem com comportamento de homogeneidade e heterogeneidade para os respectivos haras. A crioscopia significativamente mais baixa no leite da égua 8 do haras 3 e sugere que as cinzas deste animal deviam estar relacionadas com o resultado encontrado para esta variável. Já a crioscopia do leite da égua 1 do haras 3 coincidiu com o baixo teor de lactose observado na Tabela 4 para a mesma.

As alterações para a variável crioscopia entre éguas do haras 4 têm correlação com o teor de lactose apresentado na Tabela 4 e está em acordo com a explicação contida em BRASIL et al. (1999). No referido haras a diferença ficou a cargo das éguas 1 e 8.

Nota-se também na Tabela 8 que pH e acidez apresentaram-se bastante homogêneos entre as éguas dos haras 1, 2 e 4. O haras 3 apresentou maior variação para o pH. De acordo com BRITO et al. (1995), a proteína, citratos e fosfatos podem influenciar esta variável. Observando atentamente a Tabela 4, nota-se a relação entre a proteína e o pH. Os menores valores de pH (éguas 7 e 8) coincidiram com as maiores concentrações de proteína no leite. E, os maiores valores coincidiram com as menores concentrações de proteína no leite (éguas 2, 3, 5 e 6).

A acidez, variável entre as éguas do haras 3, também está relacionada, em linhas gerais, com as concentrações de proteínas - observadas na Tabela 4 - e relacionada com o pH. Este fato corrobora as explicações de BRITO et al. (1995) para os fatores que influenciam nesta variável.

## 6 CONCLUSÃO

O leite de éguas Mangalarga Marchador apresenta composição próxima do leite das demais raças quando comparado os resultados do presente estudo com os dados da literatura existente.

O leite de éguas Mangalarga Marchador apresenta composição e qualidade sanitária que estimulam a sua utilização para o consumo humano.

As metodologias da citometria de fluxo e do infravermelho próximo empregadas nas análises de composição, CCS e CBT do leite eqüino proporcionaram resultados satisfatórios, embora a calibração específica seja necessária.

A CCS do leite eqüino saudável está abaixo de  $1,0 \times 10^5$  cél./mL e possui comportamento semelhante nos ambientes de manejos diferentes, além disso, sofre influência do stress e da idade da égua.

O leite eqüino obtido de glândula mamária sadia e de ordenha higiênica apresenta baixa CCS ( $1,64 \times 10^4$  cél./mL).

A CBT do leite eqüino obtido de forma higiênica é baixa ( $1,23 \times 10^4$  UFC/mL) e indica segurança para o seu consumo pelo homem, do ponto de vista microbiológico.

A densidade do leite é pouco variável na raça Mangalarga Marchador podendo ser usada na detecção de fraudes.

Ha diferença entre os valores das variáveis de qualidade físico-química (proteína, gordura, EST e ESD) quando os dados dos quatro haras são comparados entre si.

Há homogeneidade nos resultados das análises físico-químicas de densidade, crioscopia e pH.

O pH do leite eqüino é predominantemente alcalino, está relacionado à concentração de proteína e sofre influência dos mesmos fatores que influenciam esse componente.

A acidez é predominantemente baixa e pode variar com o tempo decorrido entre a ordenha e a análise.

## 7 REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. AMIOT, J. **Ciência y Tecnología de la leche: principios y aplicaciones**. Zaragoza: Acribia, 1991, 260p.
2. AUDISTIST, M. J.; HUBLLE, I. B. Effects of mastitis on raw milk and dairy products. **Australian Journal of Dairy Technology**, Melbourne, v.53, p.28-36, 1998.
3. BARTMANN, C. P.; BLECKMANN, E.; KLUG, E. Eutererkrankungen der Stute und ihre möglichen Bedeutungen für die Fohlengesundheit. **Pferdeheilkd**, Hannover, v.12, p. 271-274, 1996.
4. BELL, K.; MCKENZIE, H. A.; MULLER, V.; ROGERS, C.; SHAW, D. C. Equine whey proteins. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, London, v.68, n.2, p. 225-236, 1982.
5. BLÖMER, F. **Untersuchungen von Stutenmilchproben sowie einiger Blutparameter bei Fohlenstuten am 1.,10.und 20.Tag post partum**. 1990. 212f. Tese (Doutorado em Clínica) Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover.
6. BOULOT, S. **L'ingestion chez la jument. Etude de quelques facteurs de variation au tours du cycle gestation-lactation. Implications, nutritionnelles et mktaboliques**. 1987. 167f. Tese (Doutorado em Agronomia) – ENSA, Université de Rennes, Rennes.
7. BRASIL, L. H. A.; BONASSI, L. A.; BACCARI JUNIOR, F.; WECHSLER, F. S. Efeito da temperatura ambiental na densidade e ponto de congelamento do leite de cabra. **Ciência e Tecnologia de Alimentos** [online], v.19, n.3, 1999. Disponível em: [www.scielo.br](http://www.scielo.br). Acesso em: 27 nov. 2005.
8. BRITO, M. A. V. P. Conceitos básicos da qualidade. In: BRITO, J. R. F.; DIAS, J. C. **Sanidade do gado leiteiro. Coronel Pacheco**. [online]. São Paulo, Embrapa-CNPGL/São Paulo, 1995. p. 55-62. Disponível em: <http://www.mastite.com.br>. Acesso em: 25 set 2004.
9. BUENO, V.F.F. **Impacto do nível de células somáticas sobre a composição do leite**. 2004. 70f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
10. BUSINCO, L. G., P. G.; LUCENTI, P.; LUCARONI, F.; PINI, C.; Di FELICE, G.; IACOVACCI, P.; CURADI, C.; ORLANDI, M. Allergenicity of mare's milk in children with cow's milk allergy. **Journal of Allergy and clinical immunology**. Saint Louis, v.105, n.5, p.1031-1034, 2000.

11. CARVALHO, M. P. Gordura e Proteína: como definir seus níveis na composição do leite. **Revista Balde Branco** [online], n.419,1999. Disponível em: [www.baldebranco.com.br](http://www.baldebranco.com.br). Acesso em: 25 set 2004.
12. CENTENO, A. J. **Curso de estatística aplicada à biologia**. CEGRAF, Goiânia, 1990, 186p.
13. CIVARDI, G. CURADI, M. C.; ORLANDI, M.; CATTANEO, T. M. P.; GIANGIACOMO, R. Capillary electrophoresis (CE) applied to analysis of mare's milk. **Milchwissenschaft**, München, v.57, n.9/10, p.515-517, 2002.
14. CHAVATTE, P. Lactation in the mare. **Equine veterinary education**, London, v.9, p.62-67, 1997.
15. CHUNG, S. Y. (2001). Presentation on the GEST project. In: ASIA-PACIFIC REGIONAL WORKSHOP ON EQUAL ACCESS OF WOMEN IN ICT, 2001, Seoul. **Anais eletrônicos...** [online]. Seoul: ITU, 2001. Disponível em: <http://www.itu.int/ITU-D/gender/documents/Asia-PacificWrkshopKorea>. Acesso em: 10 nov. 2005.
16. CORDEIRO, L. A. V. ; LANGONI, H. ; PRESTES, N. C. Glândula mamária de éguas: mensuração do pH, teste de whiteside e análise microbiológica do leite. **Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v.10, p.79-87, 1998.
17. COULON, J. B.; DAUVER, F.; GAREL, J. P. Facteurs de variation de la numération cellulaire du lait chez des vaches laitières indemnes de mammites cliniques. **INRA Productions Animales**, Paris, v.9, n.2, p.133-139, 1996.
18. CSAPO, J. **Colostrum and milk composition of several genotypes of cattle**. 1984. 180f. Tese de pós doutorado (Pós doutorado em Nutrição) - PATE, Kaposvir.
19. CSAPO, J.; STEFLER, J.; MARTIN, T. G.; MAKRAY, S.; CSAPO-KISS, Z. Composition of mares'colostrum and milk. Fat content, fatty acid composition and vitamin content. **International Dairy Journal**, Barking, v.5, p.393-402, 1995.
20. DAVISON, K. E.; POTTER, G. D.; GREENE, L. W.; EVANS, J. W.; McMULLAN, W. C. Lactation and reproductive performance of mares fed added dietary fat during late gestation and early lactation. In: EQUINE NUTRITION PHYSIOLOGY SYMPOSIUM, 10., 1987, Colorado. **Proceedings...** Colorado: Colorado State University, 1987. p. 87-92.
21. DEFRANCE, A-L. Matéria: Tel un bain de Cléopâtre. In: JOURNAL EN DIRECT - CITY UNIVERSITY OF LONDON. City University of London, 2005. Disponível em: [www.salondagriculture2005.com](http://www.salondagriculture2005.com). Acesso em: 10 dez. 2005.
22. DOLIGEZ, E. BAUDOIN, N. **Le poulain, croissance et développement**. 2.ed. Paris: Institut du cheval, 1998. 95p.

23. DOREAU, M.; BOULOT, S.; MARTIN-ROSSET, W.; ROBELIN, J. Relationship between nutrient intake, growth and body composition of the nursing foal. **Reproduction, Nutrition, Development**, Les Ulis, v.26, n.2B, p. 683-690, 1986.
24. DOREAU, M.; BOULOT, S. Methods of measurement of milk yield and composition in nursing mares: A review. **Le Lait**, Les Ulis, v.69, p.159-161, 1989.
25. DOREAU, M.; BOULOT, S.; BARLET, J.P.; PATUREAU-MIRAND, P. (1990). Yield and composition of milk from lactating mares: effect of lactation stage and individual differences. **Journal of Dairy Research**, London, v.57, p.449-454, 1990.
26. DOREAU, M. Le lait de jument et sa production: particularités et facteurs de variation. **Le Lait**, Les Ulis, v.74, p.401-418; 1992.
27. EGITO, A. S.; GIRARDET, J.-M.; MICLO, L.; MOLLÉ, D.; HUMBERT, G.; GAILLARD, J.-L. Susceptibility of equine k - and b -caseins to hydrolysis by chymosin. **International Dairy Journal**, Barking, v.11, p.885–893, 2001.
28. ELLENDORFF, F.; SCHAMS, D. Characteristics of milk ejection, associated intramammary pressure changes and oxytocin release in the mare. **Journal of Endocrinology**, Bristol, v.119, p.219-227, 1988.
29. FARM AND COUNTRY Coordenação de Agricultural Publishing Company Limited. Desenvolvido por SLW Designs, 1999. Apresenta textos sobre agribusiness no Canadá e no mundo. Disponível em: <http://www.agpub.on.ca/text/oct98/edop19.htm>. Acesso em 02 jan. 2006.
30. FERME BALESTA. Coordenação de Ferme Balesta. Desenvolvido por Ferme Balesta, 2005. Apresenta textos sobre o leite de égua na região dos Pireneus e preços de produtos à base de leite de égua. Disponível em: <http://www.ferme-balesta.com/boutique2.html>. 2005. Acesso em 28 dez. 2005.
31. FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle da mastite**. São Paulo: Lemos, 2000. 123p.
32. FOSS – Foss first in food analysis. **Integrated milk testing**. Reference manual. Hillerod, 2000. 420p.
33. GIBBS, P. G.; POTTER G. D.; BLAKE, R. W.; McMULLAN W. C. Milk production of Quarter Horse mares during 150 days of lactation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.54, p. 496-499, 1982.
34. HANS, W. B. **Zytobakteriologische Beschaffenheit, N-Acetyl- $\beta$ -D-muraminidase (Lysozym), N-Acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase (NAGase) sowie Natrium- und Chlorid-Gehalt der frühpostpartalen Stutenmilch**. 2000. 163f. Dissertação (Mestrado em Clínica) - Zentrum für Infektionsmedizin, Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover

35. HARMON, R.J. Somatic cell counts: a primer. In: ANNUAL MEETING NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 40., 2001. Reno. **Proceedings...** Madison: National Mastitis Council, 2001. p.3-9.
36. HOFFMAN, R. M.; KRONFELD, D. S.; HERBEIN, J. H.; SWECKER, W. S.; COOPER, W. L.; HARRIS, P. A. Dietary carbohydrates and fat influence milk composition and fatty acid profile of mare's milk. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 128, p.2708S-2711S, 1998.
37. JACOBS, B-J. **Klinische, mikrobiologische und zytologische Untersuchungen zur Stutenmastitis – eine Langzeitstudie**. 2004. 202f. Tese (Doutorado em Clínica) - Zentrum für Infektionsmedizin, Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover.
38. KIELWEIN, G. **Leitfaden der Milchkunde und Milchhygiene**. Berlin. Blackwell Wissenschafts – Verlag. v.3, 1994, 128p.
39. KITCHEN, B.J. Review of progress of dairy science; bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests. **Journal of Dairy Research**, Londres, v.48, n.167, 1981
40. KOLETZKO, B.; RODRIGUEZ-PALMERO, M. Polyunsaturated fatty acids in human milk and their role in early infant development. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, New York, v.4, p.269–284, 1999.
41. KULISA, M. (1986). Selected amino acids, fatty acids and N-acetylneuraminic acid in mare milk. In: ANNUAL MEETING OF EAAP, 37., 1986. Budapest. **Proceedings...**EAAP, 1986, p. 442.
42. KOTERBA, A. M.; DRUMOND, W. H. Nutritional Support of the Foal During Intensive Care. **Veterinary Clinics of North America**, Philadelphia, v.1, p.35, 1985.
43. KOTERBA, A. M.; DRUMOND, W. H.; KOSCH, P. C. **Equine Clinical Neonatology**. Philadelphia, Lea & Febiger, 1990, 844p.
44. KÜCÜKCETIN, A.; YAYGINA, H.; HINRICHS, J.; KULOZIK, U. Adaptation of bovine milk towards mares' milk composition by means of membrane technology for koumiss manufacture. **International Dairy Journal**, Edmonton, v.13, n.12, p.945-951, 2003.
45. LA CACHEROUTH. Coordenação de K Acher Alliance. Desenvolvido por K Acher, 2005. Apresenta textos independentes de interesse de produtores rurais. Disponível em: <http://www.alliancefr.com/~kacher/ActuK.htm>. Acesso em 30 set. 2005.
46. LE ROUX, Y.; COLLIN, O.; LAURENT, F. Proteolysis in samples of quart milk with warring somatic cell count. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.78, n.8, p.1278-1288, 1995.

47. MACKINNON, A. O.; VOSS, J. L. **Equine Reproduction**. Williams and Wilkins. Philadelphia, 1992, 1137p.
48. MACHADO, P.F.; PEREIRA, A.R.; SARRIÉS, G.A. Efeitos da contagem de células somáticas na qualidade do leite e a atual situação de rebanhos brasileiros. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.54, n.309, p.10-16, 1999.
49. MALACARNE, M.; MARTUZZI, F.; SUMMER, A.; MARIANI, P. Protein and fat composition of mare's milk: some nutritional remarks with reference to human and cow's milk. **International Dairy Journal**, Barking, v.12, p.869-877, 2002.
50. MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos**. São Paulo, 2003. 115p.
51. MARCONI, E.; PANFILI, G. Chemical composition and nutritional properties of commercial products of mare milk powder. **Journal of Food Composition and Analysis**, Rome, v.11, p. 178-187, 1998.
52. MARIANI, P.; SUMMER, A.; MARTUZZI, F.; FORMAGGIONI, P.; SABBIONI, A.; CATALANO, A. L. Physicochemical properties, gross composition, energy value and nitrogen fractions of Haflinger nursing mare milk throughout 6 lactation months. **Animal Research**, Paris, v.50, p.415-425, 2001.
53. MORAIS, M. T.; SIMONE, E. M.; ROMANO, L. A. Estudo da composição do leite de égua e comparação com o leite de mulher. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.13, n.64, p.62-71, 1999.
54. NEUHAUS, V. U. Säuregrad und Keimgehalt von Stutenmilch. **Milchwissenschaft**, München, v.16, p. 300-301, 1961.
55. NASSAL, J.; REMBALSKI, C. Hygienische Forderungen bei der Produktion von Stutenmilch und Kumyss. **Archiv für Lebensmittelhygiene**, Berlin, v.31, p.209-212, 1980
56. OFTEDAL, O. T.; HINTZ, H. F.; SCHRYVER, H. F. Lactation in the horse: Milk composition and intake by foals. **Journal of Nutrition**, v113, n.10, p.2096-2106, 1983.
57. OKADA, M. Histology of the mammary gland. **Journal of agricultural research**. Tohoku, v.11, p.31-35, 1960
58. OZER, B. Fermented milks. Products of Eastern Europe and Asia. In: **Encyclopedia of food microbiology**. C. A. B. R. K. Robinson, & P. D. Patel (Eds.), London: Academic Press., p. 803-804, 2000.
59. PAGAN, J. D.; HINTZ, H. F. Composition of milk from pony mares fed various levels of digestible energy. **Cornell Veterinary**, Ithaca, v.76, p.139-148, 1986.

60. PHILPOT, W. N.; NICKERSON, S. C. **Mastitis: Counter Attack**. Naperville: Babson Bros, 1991. 150p.
61. POUTREL, B. Généralités sur les mammites de la vache laitière. Processus infectieux, épidémiologie, diagnostic, méthodes de contrôle. **Recueil de Médecine Vétérinaire**, Paris, v.161, p. 497-511, 1985.
62. PRESTES, N. C., LANGONI, H., CORDEIRO, L. A. V. Estudo do leite de éguas sadias ou portadoras de mastite subclínica, pelo teste de Whiteside, análise microbiológica e contagem de células somáticas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. São Paulo, v.36, n.3, 1999.
63. RAIHA, N. C. R. Milk protein quantity and quality and protein requirements during development. **Advances in Pediatrics**, Chicago, v. 36, p. 374-368, 1989.
64. RANDOLPH, H. E.; ERWIN, R. E. Influence of mastitis on composition of milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.57, p.865-869, 1974.
65. REMBALSKI, C. **Produktion von Stutenmilch aus tierärztlicher und hygienischer Sicht**, 1979, 215f., Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Giessen Universität, veterinärmedizin Falkultät, Giessen.
66. RIELAND, E. **Untersuchungen zu den Aktivitäten der Enzyme Lysozym, LDH,  $\alpha$ -GT, GOT, GPT, Laktoperoxidase und Bestimmung der Zellzahl in Stutenmilch im Laktationsverlauf**, 1997, 113f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Giessen Universität, veterinärmedizin Falkultät, Giessen.
67. RIOS, A.; PALAVICINO, I. DELHEY, R. Reaccion al Masti-Kure<sup>r</sup> mastitis test y reciente celular en leche eugina en diferentes estados de lactancia. **Agrociencia**, Conception, v.5, p.19-25, 1989.
68. SANTOS, E. M.; ALMEIDA, F. Q.; VIEIRA, A. A.; PINTO, L. F. B.; CORASSA, A.; PIMENTEL, R. R. M.; SILVA, V. P.; GALZERANO, L. Lactação em Éguas da Raça Mangalarga Marchador: Produção e Composição do Leite e Ganho de Peso dos Potros Lactentes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.34, n.2, p.627-634, 2005.
69. SCHRYVER, H. F.; OFTEDAL, O. T.; WILLIAMS, J.; CYMBALUK, N. F.; ANTCZAK, D.; HINTZ, H. F. (1986). A comparison of the mineral composition of milk of domestic and captive wild equids (*Equus przewalski*, *E. zebra*, *E. Burchelli*, *E. caballus*, *E. Assinus*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, London, v.85A, n.2, p.233-235, 1986b.
70. SHARMANOV T. S.H.; ZHANGABYLOV A. K.; ZHAKSYLYKOVA R. D. Mechanism of the therapeutic action of whole mare's and camel's milk in chronic hepatitis. **Voprosy Pitaniia**, Moscou, v.1, p.17-23, 1982.

71. SHARMANOV T. S. H.; KADYROVA R. K. H.; SALKHANOV B. A. Effectiveness of peptic ulcer diet therapy using rations containing whole mare's and camel's milk. **Voprosy Pitaniia**, Moscou, v.3, p.10-14, 1981.
72. SIGLER, D. H.; ERICSON, D. E.; GIBBS, P. G.; KIRACOFÉ, G. H.; STEVENSON, J. S. Reproductive traits, lactation and foal growth in mares fed altrenogest. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.67, n.5, p.1154-1159, 1989.
73. SMOLDERS, E. A. A.; van der VEEN, N. G.; van POLANEN, A. Composition of horse milk during the suckling period. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v.25, n.1-2, p.163-171, 1990.
74. SOLAROLI, G.; PAGLIARINI, E.; PERI, C. Composition and nutritional quality of mare's milk. **Italian Journal of Food Science**, Parma, v.5, p. 3-10, 1993.
75. SORDILLO, L. M.; SHAFER-WEAVER, K.; ROSA, D. Immunobiology of mammary gland. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, n.8, p.1851-1865, 1997.
76. SUMMER, A.; FORMAGGIONI, P.; FILIPPINI, S.; MARTUZZI, F.; CATALANO, A.L.; MARIANI, P. Physico-chemical properties and energy value of haflinger nursing mares milk during 6 lactation months. In: CONGRESS "NUOVE ACQUISIZIONI IN MATERIA DI ALIMENTAZIONE, ALLEVAMENTO E ALLENAMENTO DEL CAVALLO SPORTIVO" 2., 2000, Campobasso. **Anais eletrônicos...** [online]. Campobasso: Università di Parma, 2000. Disponível em: <http://www.unipr.it/arpa/facvet/annali/2000/summer/summer.htm>. Acesso em: 15 fev. 2005.
77. TIETZE, M.; LITWINCZUK, A.; BUDZYNSKA, M.; BEDERSKA, M. Factors determining somatic cell content in farm livestock milk. **Annuaire Université Marie Curie-Sklodowska Sector EE Zootechnie**, v.19, p.297-301, 2001.
78. TSENKOVA, R.; ATANASSOVA, S.; KAWANO, S. Somatic cell count determination in cow's milk by near-infrared spectroscopy: A new diagnostic tool. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.71, p.534-538, 2001.
79. ULLREY, D. E., STRUTHERS, R. D., HENDRICKS, D. G., BRENT, B. E. Composition of mare's milk. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 25:1, p. 217-222, 1996.
80. UNION NATIONALE INTERPROFESSIONELLE DU CHEVAL. Coordenação de Géraldine Aupée. Desenvolvido por La compagnie du Net, (2003). Apresenta textos de informações de suporte ao desenvolvimento da Indústria do cavalo francesa. Disponível em: [http://www.unic.chevalunic.fr/html/chevaux\\_france/poneys/utilisations.htm](http://www.unic.chevalunic.fr/html/chevaux_france/poneys/utilisations.htm). Acesso em: 15 dez. 2005.

81. USTINOWA, W. I., DEMENTJEW, T. A.; BYOCHOWEZ, T. A. Die Veränderungen der Somazellzahl in der Milch der Stuten während des Lichttages. In: INTERNATIONAL DAIRY CONGRESS, 21., 1982, Montreal, **Proceedings...**, Montreal, 1982. p.S. 632
82. WOLTER, R. **Alimentation du cheval**. Paris: Groupe France Agricole, 1999. 478p.
83. ZICKER, S. C.; LONNERDAL, B. Protein and nitrogen composition of equine (*Equus caballus*) milk during early lactation. **Comparative Biochemistry and Physiology**, New York, v. 108A, p. 411-421, 1994.
84. ZIMMERMAN, R. A. Effect of ration on composition of mare's milk. In: NUTRITION AND PHYSIOLOGY SYMPOSIUM, 9., 1985, Lansing. **Proceedings...** Lansing: Michigan State University, 1985. p. 96-102.
85. ZOEGE VON MANTEUFFEL, N. **Anwendungsmöglichkeiten einiger ausgewählter chemischer, physikalischer und mikrobiologischer Untersuchungsmethoden aus dem Bereich der Eutergesundheit des Rindes**, 1989. 182f. Dissertação (Mestrado em Clínica) - Zentrum für Infektionsmedizin, Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover

# 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](#)