

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**USO DO INIBIDOR DE TRIPSINA DO “LEITE” DE SOJA NA
IMUNIZAÇÃO PASSIVA DE CABRITOS NEONATOS**

Bruna Akie Kamimura

Zootecnista

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

2013

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**USO DO INIBIDOR DE TRIPSINA DO “LEITE” DE SOJA NA
IMUNIZAÇÃO PASSIVA DE CABRITOS NEONATOS**

Bruna Akie Kamimura

Orientador: Prof. Dr. Kléber Tomás de Resende

Co-orientadora: Profa. Dra. Maria Regina Barbieri de Carvalho

**Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp,
Câmpus de Jaboticabal, como parte das
exigências para a obtenção do título de
Mestre em Zootecnia.**

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

K15u Kamimura, Bruna Akie
Uso do inibidor de tripsina do "leite" de soja na imunização passiva de cabritos neonatos / Bruna Akie Kamimura. -- Jaboticabal, 2013
ix, 57 p. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2013
Orientador: Kléber Tomás de Resende
Co-orientadora: Maria Regina Barbieri de Carvalho
Banca examinadora: José Jurandir Fagliari, Cláudia Josefina
Dorigan
Bibliografia

1. Cabra-colostro. 2. Leites-composição centesimal. 3. Cabra-
fracionamento proteico. 4. Imunoglobulinas. 5. Cabrito-soro
sanguíneo. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias.

CDU 637.123:636.39

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CAMPUS DE JABOTICABAL

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: USO DO INIBIDOR DE TRIPSINA DO "LEITE" DE SOJA NA IMUNIZAÇÃO PASSIVA DE CABRITOS NEONATOS

AUTORA: BRUNA AKIE KAMIMURA

ORIENTADOR: Prof. Dr. KLEBER TOMAS DE RESENDE

CO-ORIENTADORA: Profa. Dra. MARIA REGINA BARBIERI DE CARVALHO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM ZOOTECNIA , pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. MARIA REGINA BARBIERI DE CARVALHO

Departamento de Tecnologia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Prof. Dr. JOSE JURANDIR FAGLIARI

Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Prof. Dra. CLÁUDIA JOSEFINA DORIGAN

Centro Universitário Barão de Mauá / Ribeirão Preto/SP

Data da realização: 27 de junho de 2013.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

BRUNA AKIE KAMIMURA, nascida na cidade de Monte Alto, São Paulo, no dia 19 de março de 1987, filha de Yutaka Kamimura e Yociko Kassio Kamimura. É zootecnista formada em dezembro de 2010 pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Câmpus de Jaboticabal. Durante a graduação foi bolsista de Iniciação Científica do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico no Laboratório de Análises de Alimentos de Origem Animal e Água, do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, nesta mesma universidade, sob orientação do Prof. Dr. Oswaldo Durival Rossi Júnior. Durante a colação de grau recebeu o prêmio de primeiro lugar no conjunto de disciplinas profissionalizantes do curso de graduação em Zootecnia. Em março de 2011, ingressou no curso de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, área de concentração em Produção Animal, pela mesma instituição, onde foi bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, sob orientação do Prof. Dr. Kléber Tomás de Resende e co-orientação da Profa. Dra. Maria Regina Barbieri de Carvalho, obtendo o título de Mestre em 27 de junho de 2013.

Aos meus pais, Yutaka Kamimura e Yociko Kassio Kamimura que sempre me incentivaram e estiveram presentes em todos os momentos da minha vida.

Aos meus irmãos Emerson Haruiti Kamimura e Ivan Haruo Kamimura, pelos conselhos e pelo apoio depositado durante todas as minhas decisões.

... *Dedico*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por iluminar os meus caminhos durante a realização desse trabalho e por proporcionar inúmeras conquistas em minha vida.

À Profa. Dra. Maria Regina Barbieri de Carvalho, pela orientação desde o estágio curricular até o mestrado, pelo acompanhamento constante, buscando sempre o melhor para seus orientados, pela amizade, confiança e aprendizado. Minha eterna gratidão.

Ao Prof. Dr. Kléber Tomás de Resende, pela generosidade, companheirismo, ensinamentos e disponibilização de recursos e contatos para a concretização desse trabalho. Meus sinceros agradecimentos.

Ao Prof. Dr. José Jurandir Fagliari, pela considerável contribuição e grandiosa ajuda, disponibilizando seu laboratório para análises e seus conhecimentos para engrandecer esse trabalho.

À Profa. Cláudia Josefina Dorigan, por ter participado na banca de defesa e pelas suas generosas contribuições.

Ao Dr. Sérgio João Mahfuz, pela disponibilização de sua propriedade e de seus animais para a realização desse trabalho. Pela imensa ajuda de seus funcionários que além de contribuírem no experimento a campo, se tornaram meus grandes amigos.

A amiga Marcela Simões Flório Ferreira, pelo companheirismo, amizade e pela grandiosa ajuda desde a realização de análises laboratoriais até nos ensinamentos para coleta de sangue, essenciais para a concretização desse trabalho.

Aos técnicos de laboratório, Tânia, Paulo, Cláudia e Renata, pelo auxílio nas análises laboratoriais e por proporcionarem momentos de descontração.

Aos colegas Ricardo Nociti e Nhayandra Dias, pela disponibilidade e auxílio nas análises bioquímicas.

Aos amigos de graduação e pós-graduação, pelos momentos de alegria, pelo aprendizado e companheirismo.

A todos os membros do grupo de estudos (Ruminesp) pela contribuição no aprimoramento da área acadêmica e científica, pelos eventos sociais, em especial um agradecimento à Dra. Márcia por ter participado na banca de qualificação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão do auxílio financeiro.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) – Câmpus de Jaboticabal, por oferecer todo suporte e instalações e por proporcionar mais uma conquista em minha carreira profissional.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização desse trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	v
LISTA DE TABELAS.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	ix
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVO.....	3
2.1. Objetivo geral.....	3
2.2. Objetivos específicos.....	3
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
3.1. Imunidade passiva.....	4
3.2. Inibidor de tripsina.....	4
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
4.1. Material.....	11
4.2. Elaboração do “leite” de soja.....	11
4.3. Processamento do colostro.....	11
4.4. Manejo dos animais.....	12
4.5. Alimentação.....	12
4.6. Colheita e preparação das amostras de sangue.....	13
4.7. Preparação das amostras de colostro para análises laboratoriais.....	14
4.8. Análises laboratoriais.....	14
4.8.1. Determinação da atividade dos inibidores de tripsina.....	14
4.8.2. Fracionamento proteico por eletroforese, atividade enzimática e concentração de minerais no soro lácteo proveniente do colostro caprino adicionado ou não de “leite” de soja.....	15
4.8.3. Análises do soro sanguíneo.....	16
4.9. Análise estatística.....	16
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17

5.1. Características do colostro.....	17
5.2. Características do soro sanguíneo.....	22
6. CONCLUSÕES.....	40
7. REFERÊNCIAS.....	41
8. IMPLICAÇÕES.....	52
APÊNDICES.....	53
Apêndice A.....	54



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 009413/12 do trabalho de pesquisa intitulado "**Inibidor de tripsina da soja e imunidade passiva em cabritos neonatos**", sob a responsabilidade da Prof^a Dr^a Maria Regina Barbieri de Carvalho está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação (COBEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião extraordinária de 18 de maio de 2012.

Jaboticabal, 21 de maio de 2012.

Prof. Dr. Andriago Barboza De Nardi
Coordenador - CEUA

USO DO INIBIDOR DE TRIPSINA DO “LEITE” DE SOJA NA IMUNIZAÇÃO PASSIVA DE CABRITOS NEONATOS

RESUMO – A imunização passiva de cabritos ocorre por meio da ingestão do colostro, rico em imunoglobulinas (Igs), que são absorvidas nas primeiras horas de vida do animal. A incorporação de inibidores de tripsina ao colostro pode impedir a proteólise das Igs e possibilitar aumento do potencial de desenvolvimento do sistema imune do animal, principalmente quando o colostro apresentar baixa concentração desta proteína. O objetivo deste estudo foi avaliar a transferência de imunidade passiva em cabritos alimentados com colostro caprino adicionado de “leite” de soja contendo inibidores de tripsina ativos. O “leite” de soja foi preparado conforme recomendação da Embrapa, e submetido ao aquecimento a 80°C por 15 min. O colostro foi aquecido a 56°C por 60 min. e obtido de cabras com parições concentradas no período da tarde, sendo a primeira ordenha realizada às 8 horas do dia seguinte, e a segunda 24 horas após. Foram utilizados 25 cabritos recém-nascidos da raça Saanen alimentados com colostro caprino de primeira (T1) e segunda (T2) ordenha, e com 10% (T3), 20% (T4) e 30% (T5) de “leite” de soja em substituição ao colostro caprino de segunda ordenha. As amostras de sangue foram colhidas por venopunção da jugular (1, 12, 24, 36 e 48 h após o nascimento), sendo a primeira colheita realizada antes do fornecimento do colostro. As análises bioquímicas evidenciaram a importância da ingestão do colostro de primeira ordenha que apresentou valores elevados para proteína total (PT) de 8,48 g.dL⁻¹, gamaglutamiltransferase (GGT) de 1.321 U.L⁻¹, fosfatase alcalina (ALP) de 189 U.L⁻¹ e fósforo de 43,9 mg.dL⁻¹. A atividade dos inibidores de tripsina variou de 1.058 (T2) a 2.329 UTI.mg⁻¹ (T5). Os resultados das análises bioquímicas séricas mostraram que os tratamentos não influenciaram as concentrações dos mesmos, porém houve aumento nas atividades de GGT e ALP, e na concentração de IgG 12 horas após o nascimento e ingestão do colostro. Os resultados permitem concluir que a utilização de “leite” de soja é uma importante alternativa para incorporar inibidores de tripsina ativos melhorando a qualidade do colostro de segunda ordenha, uma vez que ocorreu adequada transmissão de imunidade passiva, sem interferência nos parâmetros séricos analisados.

Palavras-chave: colostro, composição centesimal, fracionamento proteico, imunoglobulinas, soro sanguíneo

USE OF SOYMILK TRYPSIN INHIBITOR IN PASSIVE IMMUNIZATION OF NEWBORN GOAT KIDS

ABSTRACT - Passive immunization of kids occurs through ingestion of colostrum rich in immunoglobulins (Igs) that are absorbed in the first hours of the animal's life. Incorporation of trypsin inhibitors in colostrum can prevent proteolysis of Igs and improves potential development of animal's immune system, especially when the colostrum has low Ig concentration. Therefore the aim of this study was to evaluate the effect of goat colostrum added soymilk containing active trypsin inhibitors in the transference of passive immunity in goat kids. The soymilk was prepared as recommended by Embrapa and heated to 80°C for 15 minutes. The goat colostrum was heated to 56°C for 60 minutes, obtained from goats with concentrated calving in the afternoon; the first milk was performed at 8 am of next day, and the second milk 24 hours later. The study used 25 Saanen goat kids fed with goat colostrum of first milk (T1), goat colostrum of second milk (T2), goat colostrum of second milk plus 10% of soymilk (T3), goat colostrum of second milk plus 20% of soymilk (T4) and goat colostrum of second milk plus 30% of soymilk (T5). Blood samples were collected by jugular venipuncture (1, 12, 24, 36 and 48 hours after birth), the first sample was collected before the first feeding of colostrum. Biochemical analysis indicated the importance of colostrum of first milk with high values for total protein (TP) of 8.48 g.dL⁻¹, gamma glutamyl transferase (GGT) 1,321 U.L⁻¹, alkaline phosphatase (ALP) 189 U.L⁻¹ and phosphorus 43.9 mg.dL⁻¹. The activity of trypsin inhibitors ranged from 1,058 (T2) to 2,329 UTI.mg⁻¹ (T5). Results of serum biochemical analyzes did not differ among treatments, but GGT and ALP activities, and IgG concentration increased 12 hours postpartum and after feeding of colostrum. The results indicate that soymilk is an important alternative source to incorporate active trypsin inhibitors that improve quality of goat colostrum of second milk with adequate transference of passive immunity in kids, without interference in serum parameters analyzed.

Keywords: colostrum, chemical composition, protein fractionation, immunoglobulins, blood serum

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Composição centesimal (%) do colostro caprino de primeira e de segunda ordenha adicionado de diferentes concentrações de “leite” de soja.....	13
Tabela 2. Análise de variância e médias para a concentração de proteínas totais (PT), atividade das enzimas gamaglutamiltransferase (GGT) e fosfatase alcalina (ALP) do soro lácteo de colostro caprino de primeira e de segunda ordenha adicionado de diferentes concentrações de “leite” de soja.....	18
Tabela 3. Análise de variância e médias para as concentrações de cálcio (Ca), fósforo (P) e magnésio (Mg) do soro lácteo de colostro caprino de primeira e de segunda ordenha adicionado de diferentes concentrações de “leite” de soja.....	19
Tabela 4. Análise de variância e médias para as concentrações das frações proteicas (mg.dL ⁻¹) do soro lácteo de colostro caprino de primeira e de segunda ordenha adicionado de diferentes concentrações de “leite” de soja.....	20
Tabela 5. Análise de variância das concentrações de proteínas totais (PT) e atividades das enzimas gamaglutamiltransferase (GGT) e fosfatase alcalina (ALP), do soro sanguíneo de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.....	22
Tabela 6. Média das concentrações séricas de proteína total (g.dL ⁻¹) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.....	23
Tabela 7. Média das atividades séricas de gamaglutamiltransferase (U.L ⁻¹) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.....	25
Tabela 8. Média das atividades séricas de fosfatase alcalina (U.L ⁻¹) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.....	27

Tabela 9. Análise de variância para as concentrações de cálcio (Ca), ferro (Fe), fósforo (P) e magnésio (Mg) do soro sanguíneo de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha, adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.....	29
Tabela 10. Média das concentrações séricas de cálcio (mg.dL^{-1}) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.....	29
Tabela 11. Média das concentrações séricas de ferro ($\mu\text{g.dL}^{-1}$) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.....	30
Tabela 12. Média das concentrações séricas de fósforo (mg.dL^{-1}) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.....	30
Tabela 13. Média das concentrações séricas de magnésio (mg.dL^{-1}) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.....	31
Tabela 14. Análise de variância das frações proteicas (mg.dL^{-1}) do soro sanguíneo de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.....	32
Tabela 15. Média das concentrações séricas de imunoglobulina A (mg.dL^{-1}) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.....	32
Tabela 16. Média das concentrações séricas de ceruloplasmina (mg.dL^{-1}) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.....	33
Tabela 17. Média das concentrações séricas de transferrina (mg.dL^{-1}) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.....	34

Tabela 18. Média das concentrações séricas de albumina (mg.dL^{-1}) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.....	35
Tabela 19. Média das concentrações séricas de haptoglobina (mg.dL^{-1}) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.....	35
Tabela 20. Média das concentrações séricas de $\alpha 1$ - glicoproteína ácida (mg.dL^{-1}) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.....	36
Tabela 21. Média das concentrações séricas de imunoglobulina G (mg.dL^{-1}) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.....	37

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Representação gráfica das concentrações séricas de proteínas totais (g.dL^{-1}) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.....	24
Figura 2. Representação gráfica das atividades séricas de gamaglutamiltransferase (U.L^{-1}) com valores transformados $\ln(x+1)$, de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.....	26
Figura 3. Representação gráfica das atividades séricas de fosfatase alcalina (U.L^{-1}) com valores transformados $\ln(x+1)$, de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.....	28
Figura 4. Representação gráfica das concentrações séricas de imunoglobulina G (mg.dL^{-1}) com valores transformados $\ln(x+1)$, de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.....	37

1. INTRODUÇÃO

A placenta sindesmocorial dos ruminantes protege os recém-nascidos contra as agressões do meio extra-uterino e dos agentes patógenos nele existentes (GÓES et al., 1998). Neste tipo de placenta o epitélio coriônico fica em contato direto com os tecidos uterinos, impedindo a passagem transplacentária das moléculas de imunoglobulinas, e os recém-nascidos são dessa forma, dependentes dos anticorpos recebidos através do colostro (TIZARD, 2002). Sendo assim, a ingestão de colostro na espécie caprina é de fundamental importância para que ocorra a imunização passiva.

A aquisição da imunidade depende do tempo que irá levar para o colostro ser fornecido ao recém-nascido, da qualidade e do volume ingerido (CAMPOS; LIZIEIRE, 2002). A absorção de macromoléculas presentes no colostro pela mucosa intestinal de cabritos recém-nascidos ocorre até as 36 horas de idade (YANAKA, 2012b). Neste período, as proteínas do colostro são absorvidas intactas e conseguem passar, sem alterações estruturais, do colostro para a corrente circulatória dos recém-nascidos (TIZARD, 2002).

Apesar da relevância na proteção contra algumas enfermidades, o colostro caprino pode transmitir a Artrite Encefalite Caprina (CAE), através do agente patogênico, Retrovírus tipo C da subfamília *Lentivirinae*, que reduz a disponibilidade de colostro em rebanhos leiteiros, constituindo a maior preocupação na caprinocultura (ÁLVAREZ et al., 2005). Alguns rebanhos possuem quase a totalidade dos animais infectados, em decorrência desse vírus poder persistir por toda a vida do animal e apresentar uma evolução assintomática, ou não diagnosticada, tornando esses animais fontes de infecção (NARAYAN; CORK, 1990).

Entretanto, estudos têm demonstrado que a tripsina presente no intestino delgado de animais recém-nascidos pode degradar anticorpos colostrais. Assim, as espécies dependentes da ingestão adequada de colostro para adquirir imunidade passiva, têm uma elevada concentração de inibidor de tripsina no colostro (LOSTE et al., 2006).

Nos grãos das leguminosas também se verifica a ocorrência natural desses inibidores de tripsina. A sua presença no trato intestinal inibe a ação da tripsina, que é responsável pela digestão das proteínas (CARVALHO et al., 2002).

De acordo com Quigley et al. (1995b), a introdução do inibidor de tripsina purificado da soja ao colostro indica aumento do potencial de desenvolvimento do sistema imune do animal, impedindo a proteólise das imunoglobulinas. Carlsson et al. (1980), Jensen; Pedersen (1982) e Quigley et al. (1995a) observaram em bovinos e suínos que a adição do inibidor de tripsina purificado ao colostro produziu aumento na concentração de imunoglobulinas séricas em animais jovens.

Entretanto, como a quantidade de inibidores de tripsina pode interferir na resposta imunológica, o custo para a obtenção dos inibidores purificados deve ser considerado. Assim, uma alternativa a ser avaliada é a utilização de inibidor de tripsina proveniente de extrato hidrossolúvel (“leite”) de soja, por ser de fácil preparo e de baixo custo de produção (FERREIRA, 2012).

2. OBJETIVO

2.1. Objetivo geral

Avaliar o efeito da mistura de “leite” de soja contendo inibidor de tripsina ativo ao colostro caprino de segunda ordenha na transferência de imunidade passiva em cabritos neonatos da raça Saanen.

2.2. Objetivos específicos

Elaborar o “leite” de soja com inibidores de tripsina ativos.

Avaliar as concentrações de proteína total e de suas frações, além dos minerais e atividades das enzimas gamaglutamiltransferase e fosfatase alcalina no colostro de primeira e de segunda ordenha de cabras da raça Saanen, adicionado ou não de “leite” de soja.

Avaliar a transferência de imunidade passiva em cabritos da raça Saanen, mediante a determinação das concentrações séricas de proteína total, fosfatase alcalina, gamaglutamiltransferase e dosagem de imunoglobulinas no soro sanguíneo.

Determinar o proteinograma sérico em gel de poliacrilamida de cabritos recém-nascidos alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado ou não de “leite” de soja, ao longo de 48 horas após o nascimento.

Avaliar as concentrações séricas de cálcio, ferro, fósforo e magnésio dos cabritos alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado ou não de “leite” de soja, ao longo de 48 horas após o nascimento.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Imunidade passiva

Os caprinos neonatos são agamaglobulinêmicos ou hipogamaglobulinêmicos devido ao tipo de placenta sindesmocorial, que bloqueia a passagem de anticorpos para o feto durante a gestação, sendo totalmente dependentes da ingestão e absorção do colostro. Dessa forma, são expostos a um período de maior susceptibilidade às infecções, que se estende desde o nascimento até apresentarem um sistema imunológico adequado (TIZARD, 2002).

No manejo do período neonatal, a ingestão do colostro representa uma das mais importantes recomendações dentro do conjunto de medidas sanitárias do rebanho (SIMÕES et al., 2005). A sobrevivência de cabritos está intimamente vinculada à boa transferência de imunidade passiva por meio do colostro, pois quanto mais elevados os níveis de imunoglobulinas no soro, melhor será a defesa contra ataques de agentes infecciosos (SANTANA et al., 2003).

Além de sua principal função de conferir imunidade neonatal, o colostro caprino é uma importante fonte de proteínas, carboidratos, lipídeos, vitaminas e sais minerais, elementos que participam da nutrição e regulação térmica do recém-nascido. O colostro também contém hormônios, fatores de crescimento e enzimas que possuem atividades associadas à maturação de tecidos, desempenhando importante papel no crescimento e desenvolvimento do neonato (LIMA, 2008).

O colostro em caprinos, assim como nos demais ruminantes, é rico em imunoglobulina G (IgG), imunoglobulina A (IgA) e imunoglobulina M (IgM). A IgG é a principal classe de imunoglobulinas presente nas primeiras secreções lácteas (HALLIDAY, 1978), representando 85 a 90% do total de imunoglobulinas do colostro (ROCHA, 2010).

A principal função da IgG é contra antígenos solúveis, neutralizando toxinas provenientes de bactérias e participando da identificação e apresentação de microrganismos e substâncias estranhas às células que executam fagocitose (BUTLER, 1969). A IgA aparece seletivamente nas secreções da mucosa, sendo a

principal imunoglobulina da imunidade local. Sua principal função é proteger as superfícies externas do corpo. A IgM presente no colostro atua eficientemente como agente aglutinante e citolítico nos casos de bacteremia (LIMA, 2008).

Fatores como raça, estágio de lactação, aporte nutricional da fêmea gestante e condições ambientais afetam as características físico-químicas do colostro, sendo que durante as primeiras quatro ordenhas após o parto ocorrem as principais mudanças na composição da secreção láctea: a lactose aumenta enquanto os teores de proteína, gordura, sólidos totais e cinzas diminuem gradativamente (VILAR et al., 2008).

Após a primeira ordenha, ocorre um rápido declínio na qualidade do colostro, fazendo com que a concentração de imunoglobulinas reduza à medida que as ordenhas vão se sucedendo, e, paralelamente, a capacidade de absorção das imunoglobulinas pela parede intestinal do animal diminui após o nascimento (DUKES, 1993).

A maior concentração de proteínas totais, albumina, globulinas, gamaglobulinas e densidade no colostro ocorrem até às 24 horas após o parto (ANDRADE, 2008). O limite máximo possível para obtenção de adequada transferência de imunidade passiva aos neonatos por meio do colostro seria até o dia seguinte ao parto, considerando como ideal a secreção láctea obtida na primeira ordenha (BAROZA, 2007). Quanto mais cedo é fornecido às crias melhor, pois existe uma correlação negativa entre a quantidade de imunoglobulinas (Igs) do colostro ingerido e a mortalidade em neonatos, e uma correlação positiva entre o conteúdo de Igs no sangue de cabritos com 48 horas de vida e seus ganhos de peso a desmama (ALVES; PINHEIRO, 2004).

O intestino delgado do neonato é formado pelos enterócitos embriogênicos, que permitem a internalização por pinocitose de anticorpos ou imunoglobulinas sem que ocorra perda da atividade biológica. Essas macromoléculas proteicas podem penetrar a parede intestinal durante as primeiras 24 a 36 horas de vida, sendo que após esse período, já são iniciados processos catabólicos e a formação do novo epitélio que será incapaz de realizar essa absorção (MORETTI, 2008; LIMA, 2008; MORRICAL et al., 1995). A partir das 22 horas de vida a absorção é reduzida

extremamente, sendo que no período de até seis horas pós-nascimento, ocorre a maior absorção dessas macromoléculas (YANAKA, 2009).

As imunoglobulinas do colostro ingerido pelos neonatos são transferidas intactas ao lúmen intestinal e atingem a circulação por um mecanismo de transporte não seletivo, mediante a baixa atividade de pepsina gástrica, reduzida atividade de enzimas da parede da mucosa intestinal, pequena produção de ácido clorídrico no abomaso e a presença do inibidor de tripsina que impede a proteólise inicial (SHELDRAKE; HUSBAND, 1985).

O colostro bovino, assim como colostro de suíno, ovino e equino contém maior atividade de inibidor de tripsina (IT) do que o leite desses mesmos animais (JENSEN, 1978; SANDHOLM; HONKANEN-BUZALSKI, 1979). Essas espécies dependentes da ingestão adequada de colostro para adquirir imunidade passiva possuem uma elevada concentração de inibidor de tripsina no colostro (LOSTE et al., 2006).

A secreção de tripsina no trato digestivo de bezerros recém-nascidos diminui a absorção de imunoglobulinas G (IgG) no colostro e aumenta a deficiência de imunidade passiva (QUIGLEY et al., 1995a). A adição de inibidor de tripsina aumenta a assimilação de imunoglobulinas G e de M, de 16 e 30%, e também aumenta a concentração total de proteínas séricas em bezerros (QUIGLEY et al., 1995b).

O colostro caprino, além de conferir imunidade neonatal e de se constituir em importante fonte de elementos vitais à sobrevivência e desenvolvimento do recém-nascido, pode ser também veículo de transmissão da artrite encefalite caprina (CAE) (LIMA, 2011). Como medida alternativa costuma-se utilizar colostro de vaca ou colostro de cabra aquecido a 56°C durante 60 minutos (SILVA, 2001).

O aquecimento do colostro caprino não influencia as concentrações de proteína total, albumina, IgG, frações proteicas obtidas por eletroforese, minerais e enzimas, mostrando a viabilidade desse tratamento, sem que haja diminuição na qualidade imunológica dessa secreção láctea (BAROZA, 2007). Esse procedimento não provoca a desnaturação de proteínas, especialmente de IgG (SILVA, 2005).

De acordo com Alves; Pinheiro (2004), animais que não mamam colostro possuem baixos níveis basais de imunoglobulinas séricas, particularmente de

imunoglobulina G. A falha de transferência de imunidade passiva é responsável por um aumento na incidência e severidade dos casos de septicemia neonatal, pneumonia, diarreia entre outras afecções, elevando de duas a quatro vezes a taxa de mortalidade dos cabritos recém-nascidos.

Em neonatos ruminantes, a atividade das enzimas gamaglutamiltransferase (GGT) e a fosfatase alcalina (ALP) no soro sanguíneo pode ser utilizada como método de avaliação da transferência de imunidade passiva (BRAUN et al., 1978), pois a absorção intestinal não é seletiva em ruminantes neonatais (WEAVER et al., 2000).

A dosagem da proteína sérica total também pode ser utilizada para avaliação da aquisição de imunidade passiva, pois no recém-nascido o nível de albumina é pouco variável, e a diferença na concentração da proteína total, antes e após a ingestão de colostro, deve-se quase que exclusivamente à absorção das globulinas presentes no colostro, dentre as quais se encontram os anticorpos ou as imunoglobulinas (FEITOSA et al., 2001).

O emprego da técnica de eletroforese em gel de acrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) permite identificar e quantificar imunoglobulinas, especialmente em recém-nascidos, orientando o manejo de animais hipogamaglobulinêmicos. A vantagem do uso desta técnica é a possibilidade de identificação de maior número de proteínas específicas, em especial imunoglobulina G e proteínas de fase aguda, como ceruloplasmina, α 1-antitripsina, transferrina, haptoglobina e glicoproteína ácida, que auxiliam no diagnóstico precoce e no prognóstico de enfermidades inflamatórias, tão comuns em neonatos (FAGLIARI et al., 2006).

As proteínas de fase aguda (PFA) são grupos de glicoproteínas sintetizadas pelos hepatócitos, sendo suas produções estimuladas por citocinas específicas, liberadas por leucócitos e macrófagos, com rápidas elevações de sua concentração durante condições inflamatórias, produzindo uma resposta a uma injúria tecidual e pode participar da proteção ao hospedeiro (JACOBSEN; ANDERSEN, 2007; PETERSEN et al., 2004).

As PFA são classificadas em negativas, como a albumina e a transferrina, cujos níveis séricos tendem a decrescer em condições inflamatórias, e em positivas,

representadas pela glicoproteína ácida, haptoglobina e ceruloplasmina (MURATA et al., 2004; CERÓN et al., 2005).

3.2. Inibidor de tripsina

Os inibidores de tripsina são substâncias naturalmente presentes em vegetais, sendo encontrados em todas as subfamílias *Leguminosae* (*Mimosoideae*, *Caesalpinioideae*, *Papilionoideae* e *Solanaceae*) (BATISTA et al., 1996), como no feijão (*Phaseolus vulgaris*), crotalária (*Crotalaria juncea*) e soja (*Glycine max*). As funções fisiológicas atribuídas aos inibidores no vegetal incluem a manutenção da dormência, controle de proteínas endógenas e prevenção ao ataque de microrganismos e insetos predadores (LIENER; KAKADE, 1980).

Os principais inibidores de proteases da soja são os de Kunitz (KTI) e Bowman-Birk (BBI). O Kunitz, mais sensível ao tratamento térmico, tem especificidade pela tripsina, enquanto o Bowman-Birk, mais termoestável, tem capacidade de inibir tanto a tripsina quanto a quimotripsina em sítios de ligações independentes (LIENER, 1994).

A sua presença no trato intestinal inibe a ação da tripsina, que é responsável pela digestão das proteínas, levando a um aumento na produção enzimática pelo pâncreas e à hipertrofia deste órgão (CARVALHO et al., 2002). Além disso, esses fatores antinutricionais proporcionam diminuição no ganho de peso e redução no crescimento dos animais (MONTEIRO et al., 2004). Quando incluídos na dieta, promovem diminuição na ingestão de alimento, reduz a absorção de proteínas e diminui a retenção de nitrogênio absorvido (ARMOUR et al., 1998).

O inibidor de tripsina KTI é uma proteína de alto peso molecular (cerca de 20.000 kDa), que apresenta duas pontes dissulfeto e 181 resíduos de aminoácidos, e o inibidor de tripsina BBI possui peso molecular entre 6.000 e 10.000 kDa com alta proporção de ligações dissulfeto e 71 resíduos de aminoácidos (BRUNE et al., 2010).

Segundo Brandon et al. (1993) cerca de 6% das proteínas presentes nos grãos de soja estão na forma de inibidores de tripsina, tanto o tipo Kunitz (KTI) quanto o Bowman-Birk (BBI) (STAHLHUT; HYMOWITZ, 1983). Cerca de 80% da

inibição da atividade da tripsina de grãos de soja é causada pela ação do inibidor do tipo Kunitz (MONTEIRO et al., 2004).

Os animais jovens quando alimentados com leguminosas cruas, ingerem inibidores de tripsina que inibe a ação da enzima tripsina, promovendo uma excessiva perda fecal de proteína secretada pelo pâncreas, uma vez que as enzimas pancreáticas são ricas em aminoácidos sulfurados e esta perda não pode ser compensada pela ingestão de proteínas de leguminosas (RACKIS; GUMBMANN, 1982), resultando na inibição do crescimento dos animais. A hipertrofia e hiperplasia pancreática ocorrem devido à hipersecreção das enzimas digestivas tripsina, quimotripsina e elastase, as quais são eliminadas nas fezes, ocasionando perda endógena de aminoácidos sulfurados (LIENER, 1994).

Vários procedimentos têm sido adotados para o tratamento térmico dos grãos, implicando em inativação dos fatores antinutricionais e em mudanças na estrutura das proteínas, elevando a digestibilidade destes nutrientes. O aquecimento térmico tem se mostrado bastante eficiente para inativação de inibidores de tripsina em grãos inteiros, mas com efeitos reduzidos ou mesmo ineficientes quando se trata da farinha, extratos ou de inibidores purificados (RAYAS-DUARTE et al., 1992; CARVALHO; SGARBIERI, 1997).

Produtos de soja requerem tratamento térmico para melhorar seus valores nutricionais, o que é alcançado em parte, pela inativação dos inibidores de proteases (BERNO et al., 2007).

O "leite" de soja, por ser uma bebida proteica de baixo custo, de bom valor nutritivo e de fácil obtenção, é uma importante alternativa para a nutrição humana (CABRAL et al., 1997), podendo ser utilizada na nutrição animal. O tratamento térmico durante o processamento do "leite" de soja é necessário para inativar os fatores antinutricionais, desnaturar as proteínas para torná-las mais digeríveis, facilitar a extração do "leite" e inativar a enzima lipoxigenase (MAIA, 2006).

Conforme observado por Quigley et al. (1995b), devido à habilidade dos inibidores de tripsina em reduzir a ação enzimática, a sua introdução ao colostro indica aumento do potencial de proteção das imunoglobulinas contra a digestão, as quais necessitam serem absorvidas intactas, como macromoléculas, para que

desempenhem seu papel de proteção e desenvolvimento do sistema imune do animal.

O colostro bovino contém inibidores de protease que protegem a IgG a partir da digestão no intestino, podendo auxiliar na transferência da imunidade para o recém-nascido (JENSEN et al., 1982; SANDHOLM; HONKANEN-BUZALSKI, 1979). O inibidor de tripsina é normalmente encontrado em concentrações muito elevadas em colostro de primeira ordenha, em seguida, diminui com o aparecimento da lactação. A adição de inibidor de tripsina da soja pode aumentar a concentração de IgG no soro em vitelos (QUIGLEY et al., 1995a), muito provavelmente devido à proteção de IgG a partir da digestão intestinal.

Segundo Ferreira (2012), a adição dos inibidores de tripsina da soja ao colostro bovino, não interferiu nos parâmetros séricos analisados em bezerras, devido à qualidade do colostro utilizado e a elevada atividade dos inibidores de tripsina nele naturalmente presentes, ocorrendo uma adequada transferência de imunidade passiva. Portanto, este procedimento parece ser interessante para colostro com baixa concentração de Ig, o que pode ser capaz de protegê-la da degradação e promover expressiva melhora no desenvolvimento do sistema imune.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

O experimento foi realizado no capril Rio Preto – Caprimilk, localizado no município de Engenheiro Schimidt – SP, em julho de 2012. Foram utilizados 25 cabritos machos recém-nascidos da raça Saanen, alimentados com colostro caprino de primeira ordenha e de segunda ordenha adicionado de “leite” de soja, contendo os inibidores de tripsina ativos, nas concentrações 0%, 10%, 20% e 30%. Este estudo teve a aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) – protocolo nº 009413/12.

4.2. Elaboração do “leite” de soja

Os grãos de soja foram pesados e submetidos à trituração com água fervente na proporção de 1:10 (peso/volume) (EMBRAPA, 2012). O material triturado foi filtrado em peneira de 60 “mesh”, e o “leite” obtido foi homogeneizado e em seguida, aquecido a 80°C durante 30 minutos em banho-maria para inativação da hemaglutinina (LIENER, 1958). Após resfriamento o “leite” de soja foi armazenado sob congelamento a -18°C até sua utilização no ensaio com os animais.

4.3. Processamento do colostro

O colostro foi proveniente de cabras da raça Saanen pertencentes ao rebanho do capril, com os partos concentrados no período da tarde, sendo a primeira ordenha realizada às 8 horas do dia seguinte, e a segunda 24 horas após, o que caracterizou os colostros de primeira e segunda ordenha. O colostro foi envasado em garrafa plástica e mantido refrigerado a 10°C, por até dois dias.

Para a padronização das amostras realizou-se a homogeneização em recipiente de alumínio, submetendo ao aquecimento a 56°C por 60 min. A termização foi realizada em decorrência do controle da Artrite Encefalite Caprina Viral (CAE) (ANDRADE, 2008).

O colostro de primeira ordenha foi novamente envasado em porções de 250 mL, e o de segunda ordenha em porções de 250, 225, 200 e 175 mL, de acordo com a quantidade de “leite” de soja a ser utilizada, e mantidos congelados a -18°C por até uma semana. Este procedimento foi repetido por cinco vezes, constituindo “pools” de colostro, sendo cada um igualmente distribuído entre os tratamentos.

O colostro destinado à alimentação dos cabritos foi descongelado por imersão das garrafas em água aquecida a 30°C e individualmente homogeneizado em recipiente de alumínio, quando se adicionou a quantidade de “leite” de soja estabelecida para cada tratamento. O “leite” de soja também foi descongelado em banho-maria.

4.4. Manejo dos animais

Os animais machos foram selecionados imediatamente após a parição. Os partos ocorreram nas baias, e foi observado o momento exato da parição para impedir o acesso dos cabritos ao colostro materno. Cerca de meia hora depois de paridos foram identificados e alojados no berçário em baias individuais suspensas, localizadas no interior do galpão. Após dois dias, os animais foram alojados em baias coletivas, onde permaneceram até o desmame.

A distribuição dos 25 animais nos tratamentos ocorreu sequencialmente conforme a ordem de parição, com cinco animais por tratamento.

4.5. Alimentação

A alimentação inicial dos cabritos ocorreu uma hora após o nascimento, sendo fornecido para cada animal 250 mL de colostro adicionado ou não de “leite” de soja, conforme os tratamentos (T):

T1 – Colostro caprino de primeira ordenha (1ª Ordenha);

T2 – Colostro caprino de segunda ordenha (2ª Ordenha);

T3 – 10% de “leite” de soja em substituição ao colostro caprino de segunda ordenha (2ª Ord. + 10%);

T4 – 20% de “leite” de soja em substituição ao colostro caprino de segunda ordenha (2ª Ord.+ 20%);

T5 – 30% de “leite” de soja em substituição ao colostro caprino de segunda ordenha (2ª Ord.+ 30%).

Os cabritos (peso médio de $4,0 \pm 0,33$ kg) foram alimentados até completarem 48 horas de vida, com mais três porções de 250 mL do colostro, totalizando um litro para cada animal, sendo o aleitamento realizado em duas mamadas diárias. A partir deste período os animais foram alimentados conforme a prática adotada pelo capril, recebendo no cocho dieta líquida (sucedâneo composto de “leite” de soja e leite em pó Nattimilk®) e tendo livre acesso à água. A partir do sétimo dia de vida os animais receberam dieta sólida (feno e ração).

O volume de colostro fornecido seguiu o percentual de 10 a 15% do peso vivo do recém-nascido de acordo com Silva (2007). A composição centesimal dos colostros e das misturas “leite” de soja e colostro está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Composição centesimal (%) do colostro caprino de primeira e de segunda ordenha adicionado de diferentes concentrações de “leite” de soja.

Colostro	Umidade	Gordura	Proteína	Cinzas	Carboidrato
1ª Ordenha	79,94	7,70	8,76	0,46	3,14
2ª Ordenha	80,25	8,50	6,95	0,53	3,77
2ª Ord. + 10%	81,22	7,53	6,79	0,49	3,97
2ª Ord. + 20%	82,48	7,07	6,57	0,44	3,44
2ª Ord. + 30%	83,37	6,57	6,13	0,42	3,51

4.6. Colheita e preparação das amostras de sangue

As amostras de sangue foram colhidas por venopunção da jugular, com uso de agulhas 25 x 0,7 mm, em frasco vacuolizados de 10 mL (COSTA et al., 2008), após 1, 12, 24, 36 e 48 horas da parição, sendo a primeira colheita realizada antes do fornecimento do colostro e considerado o tempo 0 (zero) de colheita. O sangue foi centrifugado a 1500 g a 4°C por 15 min. (PAIVA et al., 2006) e o soro, fracionado

em tubos de 2 mL (tipo “eppendorf”) devidamente identificados e congelados a -18°C (KINDLEIN et al., 2007).

4.7. Preparação das amostras de colostro para análises laboratoriais

As amostras de cada “pool” de colostro foram preparadas com a adição de coagulante líquido para queijos (Estrella[®]) na proporção de 5% para o volume total. Em seguida, as amostras foram colocadas em banho-maria a 37°C por 20 minutos, para a formação e retração do coágulo, e centrifugadas a 1.500 g por 15 min. em centrífuga refrigerada.

A fração intermediária da solução trifásica foi aspirada e congelada a -20°C para análises bioquímicas e fracionamento das proteínas colostrais.

4.8. Análises laboratoriais

4.8.1. Determinação da atividade dos inibidores de tripsina

A atividade dos inibidores de tripsina de amostras de “leite” de soja, de colostro de primeira e segunda ordenha e de colostro de segunda ordenha adicionado de “leite” de soja foi determinada utilizando-se o $\text{N}\alpha$ -benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida (BAPNA) como substrato para a tripsina, conforme o procedimento descrito por Kakade et al. (1969).

O extrato do colostro foi preparado diluindo-se 0,5 mL de amostra em 4,5 mL de água destilada e centrifugação a 9.500 g a 4°C por 30 min. (SOARES FILHO, 2000). O “leite” de soja foi centrifugado e diluído em água 1:50 (v/v). Alíquotas de 1,0 mL foram pipetadas em triplicata, em tubos de ensaio e o volume final ajustado para 1,0 mL com tampão Tris 50 mM, pH 8,2, contendo CaCl_2 20 mM. A cada tubo, previamente acondicionado em banho-maria a 37°C , foi adicionado 1,0 mL da solução de tripsina ($0,11 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ de HCl 0,001N) e após 10 minutos, 7,0 mL de BAPNA ($0,3 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ de tampão Tris 50 mM, pH 8,2 contendo CaCl_2 20 mM), previamente aquecidos a 37°C . A reação foi interrompida após 10 minutos pela adição de 1,0 mL de ácido acético a 30%. A absorbância foi determinada a 410 nm,

contra o branco, ao qual foi adicionado o ácido acético antes do BAPNA. Uma Unidade de Tripsina (UT) foi definida como o aumento de 0,01 unidade de absorvância a 410 nm por 100 mL do meio de reação, e os resultados foram expressos como Unidades de Tripsina Inibida (UTI) por miligrama de amostra ($UTI \cdot mg^{-1}$ de amostra).

4.8.2. Fracionamento proteico por eletroforese, atividade enzimática e concentração de minerais no soro lácteo proveniente do colostro caprino adicionado ou não de “leite” de soja

O fracionamento das proteínas colostrais (IgA, IgG, albumina, β -lactoglobulina, α -lactoalbumina e lactoferrina) foi realizado em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) utilizando-se a técnica proposta por Laemmli (1970) (Figura 1A). Após fracionamento, o gel foi corado por 10 minutos em solução “coomassie blue” 0,2% e o excesso de corante foi removido com solução de ácido acético 7%, até que as frações proteicas se apresentassem nítidas. As concentrações dessas proteínas foram determinadas em densitômetro computadorizado (Shimadzu¹ CS9301, Tóquio) (Figura 2A). Como referência utilizou-se uma solução marcadora (Sigma) com diferentes pesos moleculares, além de IgG caprina purificada (Sigma).

Foram determinadas as atividades das enzimas colostrais gamaglutamiltransferase – GGT (método de Szasz modificado) e fosfatase alcalina - ALP (método de Bowers e Mc Comb modificado) e as concentrações de proteína total - PT (método do Biureto), cálcio (método de CPC), fósforo (método Daly e Ertingshausen modificado) e magnésio (método Labtest), utilizando-se reagentes comerciais específicos (Labtest²). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro automático (Labmax Pleno³), com luz de comprimento de onda apropriado para cada teste.

¹ Shimadzu CS9301, Tóquio, Japão.

² Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil.

³ Labmax Pleno, Labtest, Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil.

4.8.3. Análises do soro sanguíneo

As amostras de soro sanguíneo foram submetidas à eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE), para determinação das concentrações de proteínas séricas (IgA, albumina, α 1-glicoproteína ácida, IgG, ceruloplastina, transferrina, haptoglobina), segundo recomendações de Laemmli (1970) (Figura 3A). As concentrações dessas proteínas foram determinadas em densitômetro computadorizado (Shimadzu¹ CS9301, Tóquio) (Figura 4A). Foram determinadas as atividades séricas das enzimas gamaglutamiltransferase – GGT (método de Szasz modificado) e fosfatase alcalina - ALP (método de Bowers e Mc Comb modificado) e as concentrações de proteína total - PT (método do Biureto), cálcio (método de CPC), ferro (método Labtest), fósforo (método Daly e Ertingshausen modificado) e magnésio (método Labtest), utilizando-se reagentes comerciais específicos Labtest², seguindo-se o procedimento descrito para as amostras de colostro.

4.9. Análise estatística

Os resultados obtidos na análise do soro lácteo (média dos cinco “pools”) foram analisados em um delineamento inteiramente casualizado e submetidos à análise de variância para efeitos de tratamento. Quando significativas, as médias entre tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey e a significância foi declarada a $p < 0,05$.

Os dados referentes às análises do soro sanguíneo foram analisados em um delineamento inteiramente casualizado com parcelas subdivididas (“Split-plot”), com efeito do tipo de colostro (4 GL), tempo de colheita (4 GL) e suas interações (16 GL). Utilizou-se a análise de variância e quando significativas, as médias entre tratamentos foram comparadas usando o teste de Tukey. Em todas as análises, significância foi declarada a $p < 0,05$. As análises estatísticas foram executadas pelo “software” AgroEstat - Sistema para Análises Estatísticas de Ensaio Agrônomicos (BARBOSA; MALDONADO, 2012).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Características do colostro

A atividade dos inibidores de tripsina determinada no colostro caprino de primeira e segunda ordenha e na mistura 10, 20 e 30% de “leite” de soja e colostro de segunda ordenha foram, respectivamente, 1.292, 1.058, 1.107, 1.823 e 2.329 UTI.mg⁻¹ de amostra. O “leite” de soja apresentou elevada atividade dos inibidores de tripsina com 3.904 UTI.mg⁻¹ de amostra. A adição de “leite” de soja ao colostro de segunda ordenha, que apresentou inibidores de tripsina menos ativo, proporcionou aumento na atividade até mais do que o dobro com a concentração de 30%. A presença do inibidor de tripsina no colostro impede a proteólise inicial das imunoglobulinas ingeridas pelos neonatos, permitindo as suas transferências intactas ao lúmen intestinal, as quais atingem a circulação por um mecanismo de transporte não seletivo (SHELDRAKE; HUSBAND, 1985). Assim, a utilização do “leite” de soja, por ser uma bebida proteica de baixo custo e de fácil preparo (CABRAL et al., 1997) apresenta-se como uma importante alternativa para incorporar inibidores de tripsina, principalmente em colostro com inibidores menos ativos.

Os resultados obtidos nos exames bioquímicos das amostras de soro lácteo para proteínas totais, atividades das enzimas GGT e ALP estão apresentados na Tabela 2.

Verificou-se diferenças significativas nos teores de proteína total no soro lácteo proveniente do colostro de primeira ordenha (8,48 g.dL⁻¹) em relação às misturas, indicando diluição deste componente com a adição do “leite” de soja. Arguello et al. (2006) verificaram que a concentração de proteína total no colostro de cabras da raça Majorera diminuiu rapidamente desde o nascimento até dois dias após o parto (7,9 - 5,4%, respectivamente). O valor médio de proteína total encontrado por Andrade (2008) no colostro de cabras da raça Saanen foi de 6,23 g.dL⁻¹.

Tabela 2. Análise de variância e médias para a concentração de proteínas totais (PT), atividade das enzimas gamaglutamiltransferase (GGT) e fosfatase alcalina (ALP) do soro lácteo de colostro caprino de primeira e de segunda ordenha adicionado de diferentes concentrações de “leite” de soja.

Fatores	PT (g.dL ⁻¹)	GGT (U.L ⁻¹)	ALP ¹ (U.L ⁻¹)
Tratamentos	0,003**	0,13 ^{NS}	0,10 ^{NS}
CV	18,81	26,06	8,67
1ª Ordenha	8,48 ^a	1.321,00	189,40
2ª Ordenha	6,34 ^{ab}	1.194,20	128,10
2ª Ord. + 10%	5,89 ^b	1.069,10	116,90
2ª Ord. + 20%	5,64 ^b	980,00	109,20
2ª Ord. + 30%	5,30 ^b	857,50	92,00
DMS	2,25	534,90	0,78

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). ¹ Dados submetidos à transformação logarítmica $\ln(x+1)$. ** ($p < 0,01$). ^{NS} – não significativo. CV – coeficiente de variação. DMS – diferença mínima significativa.

Baroza (2007) constatou valores superiores de proteína total de 11,5 g.dL⁻¹ no colostro de cabras da raça Saanen, aquecido a 56°C durante 60 min. e 10,7 g.dL⁻¹ para colostro “in natura” logo após o parto e de 3,32 e 3,56 g.dL⁻¹ em um dia após o parto, respectivamente, ressaltando a importância do fornecimento do colostro nas primeiras 24 horas de vida para adequada transferência de nutrientes ao recém-nascido. Os menores teores de proteína total do presente estudo podem estar relacionados ao tempo decorrido do parto (período da tarde) à realização da primeira ordenha (às 8 h do dia seguinte), conforme o cronograma de manejo da propriedade.

Não foi constatada diferença significativa na atividade da GGT no soro lácteo entre os tratamentos, indicando que a adição do “leite” de soja ao colostro não interferiu na atividade da GGT. Entretanto, os valores foram inferiores aos encontrados por Baroza (2007), com 3.359 U.L⁻¹ para colostro obtido logo após o parto e aquecido a 56°C durante 60 min.

Os resultados confirmam a atuação da GGT como um indicador da ingestão de imunoglobulinas colostrais, assim como ocorre em bezerros, para a detecção de falhas na transferência de imunidade passiva (FAGLIARI et al., 1996), uma vez que essa enzima é liberada no colostro por ocasião do parto, pelo rompimento das

células do epitélio de revestimento dos ductos galactóforos da glândula mamária (PERINO et al., 1993).

Não foram verificadas diferenças nas atividades da fosfatase alcalina entre os tratamentos. Os resultados obtidos são inferiores ao descrito por Baroza (2007) de 1.296 U.L⁻¹ para colostro caprino pós-parto submetido ao tratamento térmico e 70,4 U.L⁻¹ para o colostro um dia pós-parto. A fosfatase alcalina também pode ser utilizada como método de avaliação da transferência de imunidade passiva (BRAUN et al., 1978).

A Tabela 3 apresenta a análise de variância e as médias dos resultados para a concentração de minerais do soro lácteo de colostro caprino adicionado de “leite” de soja.

Tabela 3. Análise de variância e médias para as concentrações de cálcio (Ca), fósforo (P) e magnésio (Mg) do soro lácteo de colostro caprino de primeira e de segunda ordenha adicionado de diferentes concentrações de “leite” de soja.

Fatores	Ca (mg.dL ⁻¹)	P (mg.dL ⁻¹)	Mg (mg.dL ⁻¹)
Tratamentos	0,95 ^{NS}	0,68 ^{NS}	0,47 ^{NS}
CV	13,13	19,83	1,28
1ª Ordenha	30,68	43,60	9,23
2ª Ordenha	32,88	37,58	9,15
2ª Ord. + 10%	31,97	37,55	9,15
2ª Ord. + 20%	31,93	37,88	9,20
2ª Ord. + 30%	31,78	37,92	9,26
DMS	7,92	14,60	0,22

^{NS} – não significativo. CV – coeficiente de variação. DMS – diferença mínima significativa.

Observou-se que não houve diferença entre os tratamentos, indicando que o colostro de primeira e de segunda ordenha se assemelharam quanto aos teores de cálcio, fósforo e magnésio e a adição do “leite” de soja ao colostro não prejudicou a concentração dos mesmos. Porém, quando comparado ao colostro de vacas recém-paridas e com um dia de parição, os valores para cálcio apresentaram-se inferiores aos respectivos 55,6 mg.dL⁻¹ e 56,7 mg.dL⁻¹ obtidos por Rocha (2010).

Os teores de fósforo se mostraram inferiores e os de magnésio semelhantes aos obtidos por Baroza (2007), sendo 59,2 mg.dL⁻¹ e 9,69 mg.dL⁻¹, respectivamente, para o colostro caprino submetido ao tratamento térmico logo após o parto, ressaltando a importância do fornecimento do colostro à cria o mais rapidamente possível, para melhor aproveitamento dos nutrientes.

Na Tabela 4 estão representados a análise de variância e os valores médios obtidos no fracionamento eletroforético em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) das proteínas colostrais (imunoglobulina A e G, albumina, β-lactoglobulina, α-lactoalbumina e lactoferrina).

As imunoglobulinas representam cerca de um terço das proteínas totais presentes no colostro (RUDOVSKY et al., 2008) e suas concentrações são superiores nas primeiras porções, diminuindo rapidamente até atingirem valores mínimos no leite (GEORGIEV, 2008).

Tabela 4. Análise de variância e médias para as concentrações das frações proteicas (mg.dL⁻¹) do soro lácteo de colostro caprino de primeira e de segunda ordenha adicionado de diferentes concentrações de “leite” de soja.

Fatores	IgA ¹	IgG	Albumina	β-lactoglob.	α-lactoalb.	Lactof.
Tratamentos	0,78 ^{NS}	0,03*	0,0001**	0,18 ^{NS}	0,008**	0,0001**
CV	27,52	22,11	33,43	28,42	15,65	25,09
1ª Ordenha	11,79	4.681 ^a	818 ^a	2.026	422 ^a	331 ^a
2ª Ordenha	8,26	3.636 ^{ab}	367 ^b	1.639	375 ^{ab}	171 ^b
2ª Ord. + 10%	9,48	3.405 ^{ab}	335 ^b	1.476	334 ^{ab}	155 ^b
2ª Ord. + 20%	8,02	3.158 ^b	295 ^b	1.386	323 ^{ab}	138 ^b
2ª Ord. + 30%	6,18	3.067 ^b	265 ^b	1.398	284 ^b	118 ^b
DMS	1,11	1502	263	853	103	87

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05). ¹ Dados submetidos à transformação logarítmica $\ln(x+1)$. ** (p<0,01). * (p<0,05). ^{NS} – não significativo. CV – coeficiente de variação. DMS – diferença mínima significativa.

Observou-se que a maioria das frações proteicas apresentaram concentrações inferiores com a adição do “leite” de soja, em relação ao colostro de primeira ordenha, indicando diluição destes componentes, o que está em conformidade com o obtido para o teor de proteína total do soro lácteo (Tabela 2). Tem-se que considerar que parte do colostro foi substituída pelo “leite” de soja composto por 93,63% de água, elevando a umidade na mistura, e 3,18% de proteína (MAIA et al., 2006), quantidade esta inferior em relação ao colostro caprino. Porém

as proporções de “leite” de soja utilizadas não interferiram nos valores das frações proteicas.

Não foram verificadas diferenças entre os tratamentos quanto aos teores de IgA e β -lactoglobulina no soro lácteo. Apesar dessas proteínas colostrais não diferirem estatisticamente, deve-se considerar as implicações e diferenças biológicas nesses resultados, como os fatores relacionados às características genéticas, tempo de colheita do colostro, mecanismos ativos geneticamente comandados como a formação da caseína e os mecanismos passivos relativos à concentração de minerais.

Os valores de IgA e β -lactoglobulina do presente estudo foram semelhantes ao obtido no estudo de Moreno-Indias et al. (2012), no qual obteve 10 mg.dL^{-1} de IgA no leite caprino de transição a partir das 5 horas pós-parto e Baroza (2007) que obteve 1.064 mg.dL^{-1} de β -lactoglobulina no colostro caprino com um dia pós-parto.

Constatou-se teor superior de IgG no colostro de primeira ordenha com 4.681 mg.dL^{-1} em comparação aos contendo 20 e 30% de “leite” de soja. Esse resultado foi superior ao observado por Baroza (2007) com 1.539 mg.dL^{-1} de IgG no soro lácteo pós-parto, submetido ao tratamento térmico e Moreno-Indias et al. (2012) que apresentou 4.120 mg.dL^{-1} de IgG no colostro de caprino. Resultados superiores foram verificados por Rudovsky et al. (2008) com 4.910 mg.dL^{-1} de IgG no colostro caprino, equivalendo a 90,3% do total de imunoglobulinas e no estudo de Moretti et al. (2012) que apresentou 5.500 mg.dL^{-1} de IgG.

Apesar das concentrações inferiores de IgG no soro lácteo proveniente do colostro de segunda ordenha adicionado de 20 e 30% de “leite” de soja, a diluição pode ter sido compensada pela incorporação dos inibidores de tripsina ativos da soja.

Os teores de albumina apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, com concentração verificada no colostro de primeira ordenha superior aos demais. Para o colostro de segunda ordenha e para as misturas os valores foram semelhantes, o que indica que a adição do “leite” de soja ao colostro de segunda ordenha não prejudicou a concentração desta proteína. O teor de albumina apresentou-se inferior ao relatado por Baroza (2007) de 931 mg.dL^{-1} no colostro

caprino após o parto, porém foi maior ao do colostro de segunda ordenha com 324 mg.dL^{-1} de albumina.

A α -lactoalbumina constitui importante fonte proteica para o neonato e regula a produção de lactose no leite (ROCHA, 2010). Os teores dessa proteína no soro lácteo apresentaram diferenças entre os tratamentos, sendo superior no colostro de primeira ordenha com 422 mg.dL^{-1} , semelhante a concentração observada por Baroza (2007) no colostro caprino obtido um dia após o parto com 424 mg.dL^{-1} de α -lactoalbumina.

Valores referentes às concentrações de albumina, β -lactoglobulina e α -lactoalbumina no soro lácteo caprino são escassos na literatura, tornando-se importantes os resultados obtidos neste trabalho para a orientação de outros estudos comparativos.

A maior concentração de lactoferrina foi significativa no colostro de primeira ordenha, em relação aos demais tratamentos. Esses resultados confirmam a qualidade imunológica do colostro caprino nas primeiras horas após o parto.

A lactoferrina é a primeira linha de defesa contra infecção e inflamação na glândula mamária, atuando na bacteriostase devido à habilidade de sequestrar ferro de meios relativamente livres deste elemento, removendo um nutriente essencial para a proliferação bacteriana (SMITH; SCHANBACHER, 1977; BULLEN et al., 1978), como *Escherichia coli* e *Salmonella sp.*, dificultando a ocorrência de diarreias, apesar das baixas concentrações dessa proteína no colostro.

5.2. Características do soro sanguíneo

Os resultados das análises bioquímicas séricas dos cabritos da raça Saanen, logo após o nascimento e com 12, 24, 36 e 48 h pós-parto, alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de “leite” de soja estão dispostos nas Tabelas 5 a 13 e Figuras 1, 2 e 3 apresentados a seguir. A Tabela 5 apresenta a análise de variância para as concentrações de PT, GGT e ALP.

Observaram-se diferenças significativas na hora de colheita do sangue em todos os parâmetros avaliados (PT, GGT e ALP) e somente a PT apresentou resultado significativo para os tratamentos utilizados. O conteúdo total de IgG e

outras frações proteicas determinadas pela eletroforese, participam da proteína total presente no soro sanguíneo.

Tabela 5. Análise de variância das concentrações de proteínas totais (PT) e atividades das enzimas gamaglutamiltransferase (GGT) e fosfatase alcalina (ALP), do soro sanguíneo de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.

Fatores	PT (g.dL ⁻¹)	GGT ¹ (U.L ⁻¹)	ALP ¹ (U.L ⁻¹)
Tratamentos (T)	0,05*	0,96 ^{NS}	0,92 ^{NS}
Hora de colheita (H)	0,0001**	0,0001**	0,0001**
Interação T x H	0,85 ^{NS}	0,93 ^{NS}	0,76 ^{NS}
CV Parcelas	13,77	17,10	10,65
CV Subparcelas	5,98	6,32	4,57

¹ Dados submetidos à transformação logarítmica $\ln(x+1)$. ** (p<0,01). * (p<0,05). ^{NS} – não significativo. CV – coeficiente de variação.

A Tabela 6 e Figura 1 apresentam as médias das concentrações séricas de proteína total dos cabritos nos diferentes tratamentos em função da hora de colheita.

Tabela 6. Média das concentrações séricas de proteína total (g.dL⁻¹) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.

Tratamentos	PT (g.dL ⁻¹)				
	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h
1ª Ordenha	5,13 ^{Ab}	5,67 ^{Aab}	5,71 ^{Aa}	5,73 ^{Aa}	5,62 ^{Aab}
2ª Ordenha	4,76 ^{Ab}	4,98 ^{ABab}	5,45 ^{Aa}	5,31 ^{Aab}	5,01 ^{Aab}
2ª Ord. + 10%	4,73 ^{Aa}	5,23 ^{ABa}	5,18 ^{Aa}	5,27 ^{Aa}	5,25 ^{Aa}
2ª Ord. + 20%	4,76 ^{Aa}	4,87 ^{Ba}	5,11 ^{Aa}	5,02 ^{Aa}	5,09 ^{Aa}
2ª Ord. + 30%	4,56 ^{Ab}	4,91 ^{Bab}	5,27 ^{Aa}	5,21 ^{Aa}	5,11 ^{Aa}
DMS (T d. H)	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
DMS (H d. T)	0,54	0,54	0,54	0,54	0,54

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna e letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05). DMS – diferença mínima significativa.

Foram verificadas diferenças significativas nos teores séricos de proteína total as 12 h pós-parto, e os animais que mamaram o colostro de primeira ordenha

obtiveram as maiores concentrações, em relação aos que receberam 20 e 30% de “leite” de soja.

Ramos et al. (2010) verificaram que a adição de 1 g.L^{-1} de inibidor de tripsina da soja no colostro caprino, não provocou efeito nos níveis de proteína e de suas frações no soro sanguíneo de cabritos.

Os valores de proteína apresentaram-se superiores aos observados por Silva (2005) ($4,25 \text{ g.dL}^{-1}$) no soro sanguíneo de cabritos após o parto, os quais tiveram maior aumento ($6,03 \text{ g.dL}^{-1}$) com dois dias após a primeira mamada de colostro. Andrade (2008) também obteve valores de proteínas totais superiores ao presente estudo, com níveis séricos de animais da raça Saanen coletados as 0, 12, 24, 36 e 48 h após o parto de 7,33; 7,24; 7,07; 6,63 e $6,64 \text{ g.dL}^{-1}$, respectivamente.

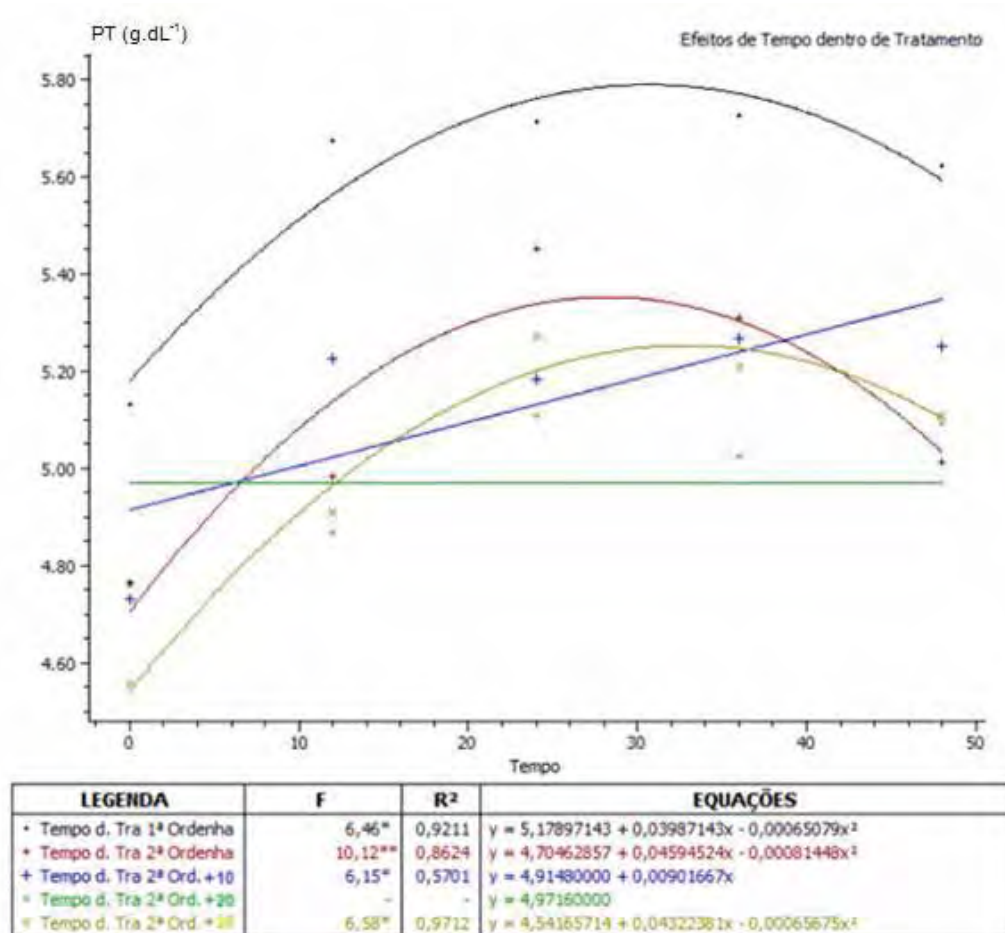


Figura 1. Representação gráfica das concentrações séricas de proteínas totais (g.dL^{-1}) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.

A concentração de proteína total no soro sanguíneo de cabritos da raça Boer alimentados com colostro caprino foi de 6,82 g.dL⁻¹ dois dias após o nascimento (YANAKA et al., 2012b). Níveis inferiores de proteínas totais séricas foram encontrados em cabritos alimentados com colostro caprino no estudo de Lima (2008).

A determinação da proteína total sérica tem sido utilizada como um método indireto para estimar a concentração de imunoglobulinas, baseado no simples fato de que valores baixos de proteína total refletem uma falha na transferência de anticorpos maternos (PIRES JUNIOR, 2009).

As médias das concentrações séricas de GGT dos cabritos nos diferentes tratamentos em função da hora de colheita estão apresentadas na Tabela 7 e Figura 2.

Tabela 7. Média das atividades séricas de gamaglutamiltransferase (U.L⁻¹) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.

Tratamentos	GGT ¹ (U.L ⁻¹)				
	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h
1 ^a Ordenha	36,20 ^{Ad}	300,40 ^{Aa}	240,30 ^{Aab}	145,10 ^{Abc}	118,90 ^{Ac}
2 ^a Ordenha	36,70 ^{Ac}	203,20 ^{Aa}	205,90 ^{Aa}	133,20 ^{Aab}	103,10 ^{Ab}
2 ^a Ord. + 10%	40,90 ^{Ad}	293,50 ^{Aa}	230,80 ^{Aab}	148,50 ^{Abc}	121,70 ^{Ac}
2 ^a Ord. + 20%	58,30 ^{Ac}	198,10 ^{Aa}	206,80 ^{Aa}	134,50 ^{Aab}	107,60 ^{Ab}
2 ^a Ord. + 30%	38,20 ^{Ac}	203,00 ^{Aa}	232,00 ^{Aa}	149,20 ^{Aab}	114,80 ^{Ab}
DMS (T d. H)	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82
DMS (H d. T)	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna e letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05). ¹ Dados submetidos à transformação logarítmica $\ln(x+1)$. DMS – diferença mínima significativa.

Os teores séricos de GGT apresentaram diferenças significativas no período de colheita logo após o nascimento, elevando esses níveis principalmente depois da primeira mamada. A sua elevação é atribuída à absorção desta enzima, a partir do colostro ingerido, onde se encontra em altas concentrações (SILVA, 2005), sendo a determinação da sua atividade sérica um bom indicativo de adequada transferência de imunidade passiva em cabritos recém-nascidos (SILVA, 2007).

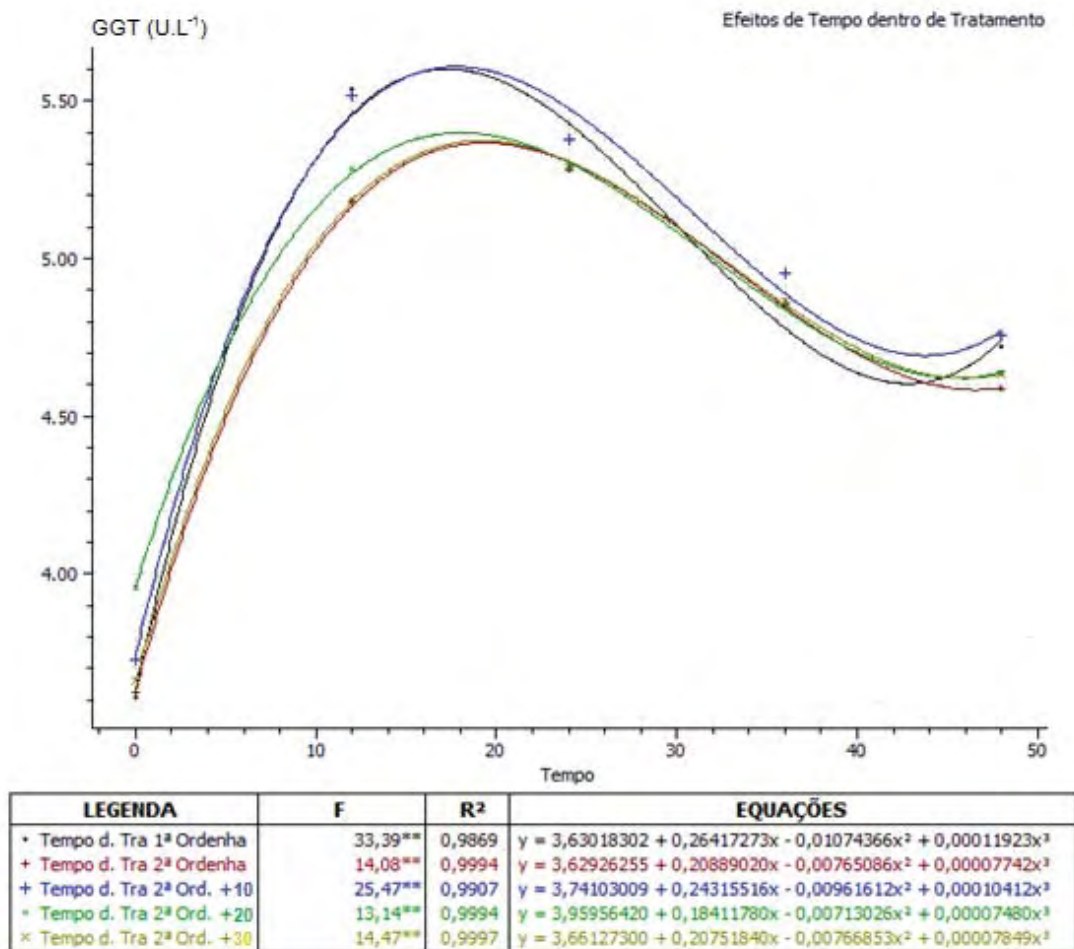


Figura 2. Representação gráfica das atividades séricas de gamaglutamiltransferase (U.L⁻¹) com valores transformados $\ln(x+1)$, de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.

A atividade sérica da GGT de cabritos alimentados com colostro submetido ao tratamento térmico para inativação da CAE foi de 36,3 U.L⁻¹ pós-parto e 295,9 U.L⁻¹ um dia após a primeira mamada (SILVA, 2005). Yanaka et al. (2012b) apresentaram resultados de 39,70 U.L⁻¹ de GGT no soro sanguíneo de cabritos recém-nascidos alimentados com colostro caprino com ingestão voluntária à vontade e 187,16 U.L⁻¹ dois dias após o nascimento.

A atividade dos inibidores de tripsina provenientes do "leite" de soja adicionado ao colostro de segunda ordenha, o qual é tido como de qualidade inferior, parece ter influenciado positivamente na absorção da GGT. Apesar das alterações não significativas nas concentrações de GGT no colostro (Tabela 2), os

valores desta enzima obtidos no sangue dos cabritos foram semelhantes entre os tratamentos contendo colostro de melhor qualidade e os acrescidos de "leite" de soja, sendo esta uma possibilidade para melhorar a imunização de cabritos recém-nascidos.

As médias das concentrações séricas de fosfatase alcalina dos cabritos nos diferentes tratamentos em função da hora de colheita estão apresentadas na Tabela 8 e Figura 3.

Tabela 8. Média das atividades séricas de fosfatase alcalina (U.L⁻¹) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.

Tratamentos	ALP ¹ (U.L ⁻¹)				
	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h
1 ^a Ordenha	297 ^{Ac}	1.424 ^{Aa}	732 ^{Ab}	380 ^{Ac}	344 ^{Ac}
2 ^a Ordenha	255 ^{Ad}	1.107 ^{Aa}	616 ^{Aab}	422 ^{Abc}	349 ^{Acd}
2 ^a Ord. + 10%	289 ^{Ab}	1.355 ^{Aa}	721 ^{Aa}	400 ^{Ab}	383 ^{Ab}
2 ^a Ord. + 20%	311 ^{Ac}	1.216 ^{Aa}	756 ^{Aab}	455 ^{Abc}	397 ^{Ac}
2 ^a Ord. + 30%	289 ^{Ac}	923 ^{Aa}	647 ^{Aab}	429 ^{Abc}	394 ^{Abc}
DMS (T d. H)	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69
DMS (H d. T)	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna e letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). ¹ Dados submetidos à transformação logarítmica $\ln(x+1)$. DMS – diferença mínima significativa.

Notou-se que a atividade sérica da fosfatase alcalina, aumentou consideravelmente às 12 h após a ingestão do colostro, chegando a 3,7 vezes o valor de referência máximo para animais adultos (KANEKO et al., 2008). A atividade sérica da fosfatase alcalina avaliada por Silva (2005) em cabritos antes da primeira mamada foi de 295 UI.L⁻¹ e de 651UI.L⁻¹ após 24 h.

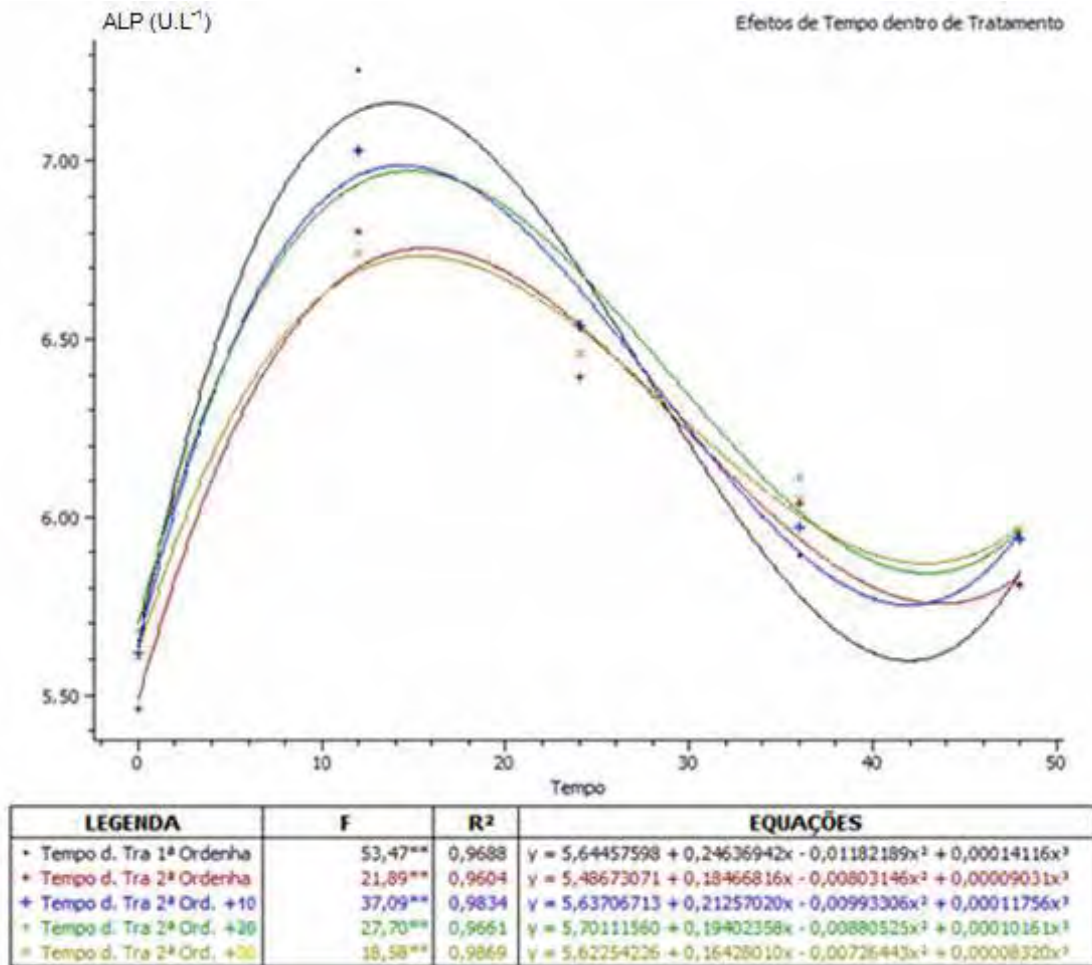


Figura 3. Representação gráfica das atividades séricas de fosfatase alcalina (U.L⁻¹) com valores transformados $\ln(x+1)$, de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.

A análise de variância e as médias dos resultados para a concentração de minerais do soro sanguíneo de caprinos alimentados com colostro adicionado de "leite" de soja encontram-se na Tabela 9. Não foram verificadas diferenças nos teores séricos de cálcio entre os tratamentos e hora de colheita. Os valores referentes ao ferro, fósforo e magnésio apresentaram diferenças significativas somente para a hora de colheita, e não foi verificada interação entre os fatores avaliados.

Tabela 9. Análise de variância para as concentrações de cálcio (Ca), ferro (Fe), fósforo (P) e magnésio (Mg) do soro sanguíneo de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha, adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.

Fatores	Ca (mg.dL ⁻¹)	Fe ¹ (µg.dL ⁻¹)	P (mg.dL ⁻¹)	Mg (mg.dL ⁻¹)
Tratamentos (T)	0,22 ^{NS}	0,30 ^{NS}	0,82 ^{NS}	0,68 ^{NS}
Hora de colheita (H)	0,84 ^{NS}	0,0001**	0,0001**	0,0002**
Interação T x H	0,27 ^{NS}	0,76 ^{NS}	0,53 ^{NS}	0,06 ^{NS}
CV Parcelas	8,77	10,01	16,35	15,44
CV Subparcelas	4,57	5,19	8,53	7,63

¹ Dados submetidos à transformação logarítmica $\ln(x+1)$. ** (p<0,01). ^{NS} – não significativo. CV – coeficiente de variação.

As Tabelas 10, 11, 12 e 13 apresentam as respectivas médias das concentrações séricas de Ca, Fe, P e Mg dos cabritos nos diferentes tratamentos em função da hora de colheita. Os valores obtidos indicam que as concentrações séricas de Ca permaneceram dentro dos limites de referência para cabras adultas (8,9 a 11,7 mg.dL⁻¹) (KANEKO et al., 2008), e com valores semelhantes ao estudo de Silva (2005).

Tabela 10. Média das concentrações séricas de cálcio (mg.dL⁻¹) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.

Tratamentos	Ca (mg.dL ⁻¹)				
	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h
1ª Ordenha	10,62 ^{Aa}	10,79 ^{Aa}	10,75 ^{Aa}	10,31 ^{Aa}	10,93 ^{Aa}
2ª Ordenha	10,20 ^{Aa}	10,02 ^{Aa}	10,40 ^{Aa}	10,63 ^{Aa}	10,50 ^{Aa}
2ª Ord. + 10%	10,18 ^{Aa}	10,23 ^{Aa}	10,11 ^{Aa}	10,68 ^{Aa}	10,58 ^{Aa}
2ª Ord. + 20%	10,20 ^{Aa}	9,87 ^{Aa}	9,98 ^{Aa}	10,18 ^{Aa}	10,00 ^{Aa}
2ª Ord. + 30%	10,52 ^{Aa}	10,69 ^{Aa}	10,52 ^{Aa}	10,31 ^{Aa}	10,24 ^{Aa}
DMS (T d. H)	1,04	1,04	1,04	1,04	1,04
DMS (H d. T)	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna e letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05). DMS – diferença mínima significativa.

As concentrações de ferro no sangue apresentaram valores superiores antes da ingestão do colostro, como o observado nos estudos de Silva (2005) e Rocha (2010). A concentração sérica de Fe considerada normal para pequenos ruminantes

é de 34,6 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ a 37,45 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999; BLOOD, 1994), correspondente a 193,2 e 209,1 $\mu\text{g.dL}^{-1}$. O teor sérico de ferro em caprinos adultos obtidos por Marques et al. (2011) foi de 25,06 $\mu\text{mol.L}^{-1}$.

Tabela 11. Média das concentrações séricas de ferro ($\mu\text{g.dL}^{-1}$) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.

Tratamentos	Fe ¹ ($\mu\text{g.dL}^{-1}$)				
	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h
1ª Ordenha	261,00 ^{Aa}	147,80 ^{Ab}	122,50 ^{Ab}	137,90 ^{Ab}	123,80 ^{Ab}
2ª Ordenha	260,70 ^{Aa}	167,10 ^{Ab}	128,30 ^{Ab}	131,30 ^{Ab}	113,90 ^{Ab}
2ª Ord. + 10%	196,70 ^{Aa}	130,00 ^{Aab}	94,00 ^{Ab}	103,70 ^{Ab}	116,20 ^{Ab}
2ª Ord. + 20%	224,70 ^{Aa}	167,10 ^{Aab}	84,00 ^{Ac}	105,70 ^{Abc}	105,50 ^{Abc}
2ª Ord. + 30%	188,20 ^{Aa}	136,30 ^{Aab}	99,70 ^{Ab}	107,60 ^{Ab}	119,30 ^{Ab}
DMS (T d. H)	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56
DMS (H d. T)	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna e letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). ¹ Dados submetidos à transformação logarítmica $\ln(x+1)$. DMS – diferença mínima significativa.

Verificou-se diferença nos teores de fósforo com valores mínimos ao nascimento e aumento após a ingestão do colostro (Tabela 12). Silva (2005) verificou 6,12 mg.dL^{-1} de fósforo sérico em cabritos logo após o nascimento, 7,99 mg.dL^{-1} em um dia após a primeira mamada de colostro e 8,47 mg.dL^{-1} em dois dias após a primeira ingestão do colostro.

Tabela 12. Média das concentrações séricas de fósforo (mg.dL^{-1}) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.

Tratamentos	P (mg.dL^{-1})				
	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h
1ª Ordenha	7,51 ^{Aa}	7,79 ^{Aa}	7,58 ^{Aa}	8,50 ^{Aa}	8,40 ^{Aa}
2ª Ordenha	7,07 ^{Ab}	7,04 ^{Ab}	8,15 ^{Aab}	8,63 ^{Aa}	8,65 ^{Aa}
2ª Ord. + 10%	7,02 ^{Ab}	7,57 ^{Aab}	7,72 ^{Aab}	8,73 ^{Aa}	8,41 ^{Aa}
2ª Ord. + 20%	7,45 ^{Ab}	7,38 ^{Ab}	8,01 ^{Aab}	8,99 ^{Aa}	9,04 ^{Aa}
2ª Ord. + 30%	6,91 ^{Ad}	7,51 ^{Ac}	8,16 ^{Abc}	9,39 ^{Aa}	9,22 ^{Aab}
DMS (T d. H)	1,51	1,51	1,51	1,51	1,51
DMS (H d. T)	1,21	1,21	1,21	1,21	1,21

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna e letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). DMS – diferença mínima significativa.

Constatou-se diferença nos teores séricos de magnésio, observando-se um aumento na concentração deste elemento, 12 h após a primeira mamada (Tabela 13). As concentrações de magnésio no sangue mantiveram-se dentro dos limites normais para a espécie caprina (KANEKO et al., 2008). Os resultados do presente estudo foram semelhantes aos encontrados por Silva (2005).

Tabela 13. Média das concentrações séricas de magnésio (mg.dL^{-1}) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.

Tratamentos	Mg (mg.dL^{-1})				
	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h
1ª Ordenha	2,02 ^{Ab}	2,30 ^{Aab}	2,45 ^{Aa}	2,28 ^{Aab}	2,49 ^{Aa}
2ª Ordenha	2,30 ^{Aa}	2,37 ^{Aa}	2,35 ^{Aa}	2,24 ^{Aa}	2,14 ^{Aa}
2ª Ord. + 10%	2,04 ^{Aa}	2,33 ^{Aa}	2,35 ^{Aa}	2,31 ^{Aa}	2,25 ^{Aa}
2ª Ord. + 20%	1,98 ^{Ab}	2,18 ^{Aab}	2,26 ^{Aab}	2,26 ^{Aab}	2,29 ^{Aa}
2ª Ord. + 30%	2,15 ^{Aa}	2,30 ^{Aa}	2,21 ^{Aa}	2,17 ^{Aa}	2,13 ^{Aa}
DMS (T d. H)	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39
DMS (H d. T)	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna e letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). DMS – diferença mínima significativa.

Os resultados da análise de variância obtidos no fracionamento eletroforético das proteínas do soro sanguíneo estão na Tabela 14. A hora de colheita de sangue influenciou os teores de todas as proteínas identificadas. Não foram verificadas diferenças entre os tratamentos e somente a haptoglobina apresentou interação entre tratamentos e hora de colheita.

As concentrações de IgA, IgG e proteínas de fase aguda (ceruloplasmina, transferrina, albumina, haptoglobina, α 1-glicoproteína ácida) analisadas no sangue dos cabritos estão, respectivamente apresentadas nas Tabelas de 15 a 21. Essas proteínas de fase aguda apresentam rápidas elevações de sua concentração durante condições inflamatórias, produzindo uma resposta a uma injúria tecidual e pode participar da proteção ao hospedeiro (JACOBSEN; ANDERSEN, 2007; PETERSEN et al., 2004).

Tabela 14. Análise de variância das frações proteicas (mg.dL^{-1}) do soro sanguíneo de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.

Fatores	IgA ¹	Ceru. ¹	Trans. ¹	Alb.	Hapto. ¹	$\alpha 1$ – glico. ác. ¹	IgG ¹
Tratamentos (T)	0,87 ^{NS}	0,83 ^{NS}	0,68 ^{NS}	0,66 ^{NS}	0,36 ^{NS}	0,37 ^{NS}	0,39 ^{NS}
Hora de colheita (H)	0,0001**	0,0001**	0,0007**	0,0001**	0,02*	0,0001**	0,0001**
Interação T x H	0,75 ^{NS}	0,07 ^{NS}	0,65 ^{NS}	0,23 ^{NS}	0,04*	0,97 ^{NS}	0,97 ^{NS}
CV Parcelas	10,52	18,24	3,76	19,34	31,20	36,76	13,54
CV Subparcelas	2,58	4,57	1,06	4,51	14,54	22,79	7,20

¹ Valores submetidos à transformação logarítmica $\ln(x+1)$. ** ($p < 0,01$). * ($p < 0,05$). ^{NS} - não significativo. CV - coeficiente de variação.

Notou-se diferenças significativas nas concentrações séricas de IgA em relação à hora de colheita com valores máximos às 48 h (Tabela 15). Após a parição, cabras adultas da raça Saanen apresentaram 124 mg.dL^{-1} de IgA com aumento gradual até os 30 dias pós-parto conforme observado por Saut et al. (2009).

Tabela 15. Média das concentrações séricas de imunoglobulina A (mg.dL^{-1}) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.

Tratamentos	IgA ¹ (mg.dL^{-1})				
	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h
1ª Ordenha	71,65 ^{Aa}	67,24 ^{Aa}	67,85 ^{Aa}	77,66 ^{Aa}	80,73 ^{Aa}
2ª Ordenha	85,14 ^{Aa}	67,17 ^{Ab}	74,70 ^{Aab}	81,25 ^{Aab}	84,74 ^{Aa}
2ª Ord. + 10%	76,96 ^{Abc}	69,48 ^{Ac}	72,69 ^{Ac}	92,82 ^{Aab}	95,17 ^{Aa}
2ª Ord. + 20%	86,78 ^{Aab}	70,72 ^{Ab}	73,52 ^{Aab}	87,23 ^{Aab}	90,44 ^{Aa}
2ª Ord. + 30%	76,95 ^{Aab}	65,43 ^{Ab}	73,24 ^{Aab}	77,46 ^{Aab}	85,12 ^{Aa}
DMS (T d. H)	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42
DMS (H d. T)	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna e letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). ¹ Dados submetidos à transformação logarítmica $\ln(x+1)$. DMS – diferença mínima significativa.

Rocha (2010) encontrou teores séricos de IgA de 84,5 mg.dL⁻¹ em bezerros mestiços Canchim-Nelore recém-nascidos, e de 290,5 mg.dL⁻¹ (valor médio) nos animais um dia após o nascimento. O valor médio de IgA obtido no soro sanguíneo de bezerros da raça Holandesa foi de 315,19 mg.dL⁻¹ com 48 h após o nascimento (FAGLIARI et al., 2006).

Os níveis de ceruloplasmina se elevaram a partir das 36 h (Tabela 16), com exceção dos tratamentos T2 e T5 cujos valores foram mantidos durante todo o período de colheita. Saut et al. (2009) observaram valores superiores dessa proteína em cabras adultas. Fagliari et al. (2006) relataram teores séricos de 31,41 mg.dL⁻¹ (valor médio), em bezerros com 48 h após o nascimento.

Tabela 16. Média das concentrações séricas de ceruloplasmina (mg.dL⁻¹) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.

Tratamentos	Ceruloplasmina ¹ (mg.dL ⁻¹)				
	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h
1ª Ordenha	21,50 ^{Abc}	18,49 ^{Ac}	19,65 ^{Ac}	26,06 ^{Aab}	28,08 ^{Aa}
2ª Ordenha	25,11 ^{Aa}	20,04 ^{Aa}	21,60 ^{Aa}	24,27 ^{Aa}	26,30 ^{Aa}
2ª Ord. + 10%	20,41 ^{Ab}	16,26 ^{Ab}	21,04 ^{Ab}	29,94 ^{Aa}	32,72 ^{Aa}
2ª Ord. + 20%	26,15 ^{Aab}	20,95 ^{Ab}	23,47 ^{Ab}	32,00 ^{Aa}	32,88 ^{Aa}
2ª Ord. + 30%	24,84 ^{Aa}	20,85 ^{Aa}	22,24 ^{Aa}	26,44 ^{Aa}	26,61 ^{Aa}
DMS (T d. H)	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53
DMS (H d. T)	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna e letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05). ¹ Dados submetidos à transformação logarítmica $\ln(x+1)$. DMS – diferença mínima significativa.

Diferenças significativas nos níveis de transferrina foram observadas para o período de colheita de sangue dos animais alimentados com colostro de primeira ordenha (Tabela 17), cujos menores valores foram constatados as 24 pós-parto com aumento significativo a partir das 36 h. Fagliari et al. (2006) detectaram concentração média de transferrina de 262,7 mg.dL⁻¹ no soro sanguíneo de bezerros com 48 h após o nascimento. Valores superiores de transferrina foram encontrados no sangue de cabras adultas (SAUT et al., 2009).

Tabela 17. Média das concentrações séricas de transferrina (mg.dL^{-1}) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.

Tratamentos	Transferrina ¹ (mg.dL^{-1})				
	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h
1ª Ordenha	415,80 ^{Aab}	414,20 ^{Aab}	389,40 ^{Ab}	433,80 ^{Aa}	432,80 ^{Aa}
2ª Ordenha	431,60 ^{Aa}	414,80 ^{Aa}	426,40 ^{Aa}	440,00 ^{Aa}	457,00 ^{Aa}
2ª Ord. + 10%	410,00 ^{Aa}	409,60 ^{Aa}	394,40 ^{Aa}	427,60 ^{Aa}	425,80 ^{Aa}
2ª Ord. + 20%	427,40 ^{Aa}	416,00 ^{Aa}	416,20 ^{Aa}	425,40 ^{Aa}	437,00 ^{Aa}
2ª Ord. + 30%	379,40 ^{Aa}	377,20 ^{Aa}	407,60 ^{Aa}	408,80 ^{Aa}	410,40 ^{Aa}
DMS (T d. H)	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
DMS (H d. T)	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna e letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). ¹ Dados submetidos à transformação logarítmica $\ln(x+1)$. DMS – diferença mínima significativa.

A transferrina é uma proteína de fase aguda negativa que transporta ferro, cujo valor diagnóstico está na avaliação de enfermidades que interferem no metabolismo deste elemento (ECKERSALL, 2008). Essa proteína possui ação protetora e participa na defesa contra a diarreia indisponibilizando o ferro que os coliformes utilizam para sua proliferação.

Não foi notada diferença entre os tratamentos quanto aos teores séricos de albumina, porém verificaram-se diferenças no período de colheita de sangue dos animais alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha (Tabela 18).

A albumina é a principal proteína encontrada no soro e constitui de 35 a 50% do total de proteínas séricas (ROCHA, 2010), sendo considerada uma proteína de fase aguda negativa. Valores inferiores de albumina foram encontrados em cabras da raça Boer com 3.310 mg.dL^{-1} após a parição e 3.300 mg/dL dois dias pós-parto (YANAKA et al., 2012a).

Os valores de albumina sérica observados no presente estudo foram superiores às concentrações encontradas por Simões et al. (2005), Fernandez et al. (2006) e Lima (2011) os quais avaliaram cabritos nas primeiras semanas de vida. Kaneko et al. (2008) consideram os valores entre 2.700 e 3.900 mg.dL^{-1} de albumina, como normais para a espécie caprina.

Tabela 18. Média das concentrações séricas de albumina (mg.dL^{-1}) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.

Tratamentos	Albumina (mg.dL^{-1})				
	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h
1ª Ordenha	4.329 ^{Aa}	4.319 ^{Aab}	4.061 ^{Aabc}	4.015 ^{Abc}	3.925 ^{Ac}
2ª Ordenha	3.998 ^{Aab}	3.849 ^{Aab}	4.032 ^{Aa}	3.945 ^{Aab}	3.715 ^{Ab}
2ª Ord. + 10%	3.993 ^{Aa}	4.066 ^{Aa}	3.857 ^{Aa}	3.807 ^{Aa}	3.860 ^{Aa}
2ª Ord. + 20%	3.999 ^{Aa}	3.861 ^{Aa}	3.832 ^{Aa}	3.699 ^{Aa}	3.789 ^{Aa}
2ª Ord. + 30%	3.898 ^{Aa}	3.859 ^{Aa}	3.865 ^{Aa}	3.842 ^{Aa}	3.751 ^{Aa}
DMS (T d. H)	689	689	689	689	689
DMS (H d. T)	312	312	312	312	312

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna e letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). DMS – diferença mínima significativa.

Foi constatada maior concentração de haptoglobina no sangue coletado às 12 h dos animais que foram alimentados com colostro de primeira ordenha em comparação com os que receberam colostro de segunda ordenha adicionado de 30% de "leite" de soja. Não foi verificada alteração na concentração sérica desta proteína durante as horas de colheita de sangue para os animais que consumiram colostro de primeira e o de segunda ordenha com 10% de "leite" de soja.

Tabela 19. Média das concentrações séricas de haptoglobina (mg.dL^{-1}) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.

Tratamentos	Haptoglobina ¹ (mg.dL^{-1})				
	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h
1ª Ordenha	13,64 ^{Aa}	18,22 ^{Aa}	17,80 ^{Aa}	15,05 ^{Aa}	19,07 ^{Aa}
2ª Ordenha	8,00 ^{Ab}	11,90 ^{ABab}	14,22 ^{Aab}	16,51 ^{Aa}	14,18 ^{Aab}
2ª Ord. + 10%	13,08 ^{Aa}	13,30 ^{ABa}	16,14 ^{Aa}	12,59 ^{Aa}	15,90 ^{Aa}
2ª Ord. + 20%	11,40 ^{Aab}	8,67 ^{ABab}	8,93 ^{Ab}	17,14 ^{Aa}	11,68 ^{Aab}
2ª Ord. + 30%	8,66 ^{Aab}	7,71 ^{Bb}	16,59 ^{Aab}	12,49 ^{Aab}	16,55 ^{Aa}
DMS (T d. H)	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87
DMS (H d. T)	0,66	0,66	0,66	0,66	0,66

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna e letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). ¹ Dados submetidos à transformação logarítmica $\ln(x+1)$. DMS – diferença mínima significativa.

Saut et al. (2009) relataram 16,88 mg.dL⁻¹ de haptoglobina no soro de cabras adultas com um dia após a parição. Valor superior foi observado por Fagliari et al. (2006) com 72,23 mg.dL⁻¹ de haptoglobina no soro de bezerros com 48 h pós-parto. Os teores séricos de haptoglobina no soro de bezerros mestiços Canchim-Nelore obtidos por Rocha (2010) foram inferiores ao presente estudo.

Considerando as concentrações séricas de α 1-glicoproteína ácida (Tabela 20), os resultados apresentaram diferenças entre os momentos de colheita do sangue, sendo que antes da mamada, os níveis dessa proteína foram inferiores ao encontrados após a ingestão do colostro de segunda ordenha e as misturas com 10 e 20% “leite” de soja. O valor médio encontrado no soro de bezerros às 48 h por Fagliari et al. (2006) foi de 23,84 mg.dL⁻¹. Os níveis obtidos em cabras da raça Saanen foram de 40 mg.dL⁻¹ logo após a parição, com redução para 9,35 mg.dL⁻¹ aos 30 dias pós-parto, conforme avaliação de Saut et al. (2009).

Tabela 20. Média das concentrações séricas de α 1 - glicoproteína ácida (mg.dL⁻¹) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.

Tratamentos	α 1 - glicoproteína ácida ¹ (mg.dL ⁻¹)				
	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h
1ª Ordenha	6,02 ^{Aa}	7,46 ^{Aa}	12,08 ^{Aa}	9,14 ^{Aa}	8,69 ^{Aa}
2ª Ordenha	3,43 ^{Ab}	6,42 ^{Aab}	8,35 ^{Aab}	9,09 ^{Aa}	9,04 ^{Aa}
2ª Ord. + 10%	3,50 ^{Ab}	4,73 ^{Aab}	6,77 ^{Aab}	7,77 ^{Aa}	8,45 ^{Aa}
2ª Ord. + 20%	3,57 ^{Ab}	5,70 ^{Aab}	8,11 ^{Aa}	6,58 ^{Aab}	8,35 ^{Aa}
2ª Ord. + 30%	4,71 ^{Aa}	5,01 ^{Aa}	8,59 ^{Aa}	6,37 ^{Aa}	7,82 ^{Aa}
DMS (T d. H)	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90
DMS (H d. T)	0,79	0,79	0,79	0,79	0,79

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna e letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05). ¹ Dados submetidos à transformação logarítmica $\ln(x+1)$. DMS – diferença mínima significativa.

Foram constatadas diferenças nas concentrações séricas de IgG no período de colheita, observando-se valores inferiores dessa proteína antes da ingestão do colostro com aumento desses níveis após a primeira mamada (Tabela 21 e Figura 4).

Tabela 21. Média das concentrações séricas de imunoglobulina G (mg.dL^{-1}) de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.

Tratamentos	IgG^1 (mg.dL^{-1})				
	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h
1ª Ordenha	163,00 ^{Ab}	657,00 ^{Aa}	915,80 ^{Aa}	936,00 ^{Aa}	905,20 ^{Aa}
2ª Ordenha	101,80 ^{Ab}	472,00 ^{Aa}	706,80 ^{Aa}	608,80 ^{Aa}	503,60 ^{Aa}
2ª Ord. + 10%	101,80 ^{Ab}	495,20 ^{Aa}	635,20 ^{Aa}	665,00 ^{Aa}	584,80 ^{Aa}
2ª Ord. + 20%	98,20 ^{Ab}	343,00 ^{Aa}	574,60 ^{Aa}	561,20 ^{Aa}	509,80 ^{Aa}
2ª Ord. + 30%	76,40 ^{Ab}	416,20 ^{Aa}	690,80 ^{Aa}	631,00 ^{Aa}	584,00 ^{Aa}
DMS (T d. H)	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93
DMS (H d. T)	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna e letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). ¹ Dados submetidos à transformação logarítmica $\ln(x+1)$. DMS – diferença mínima significativa.

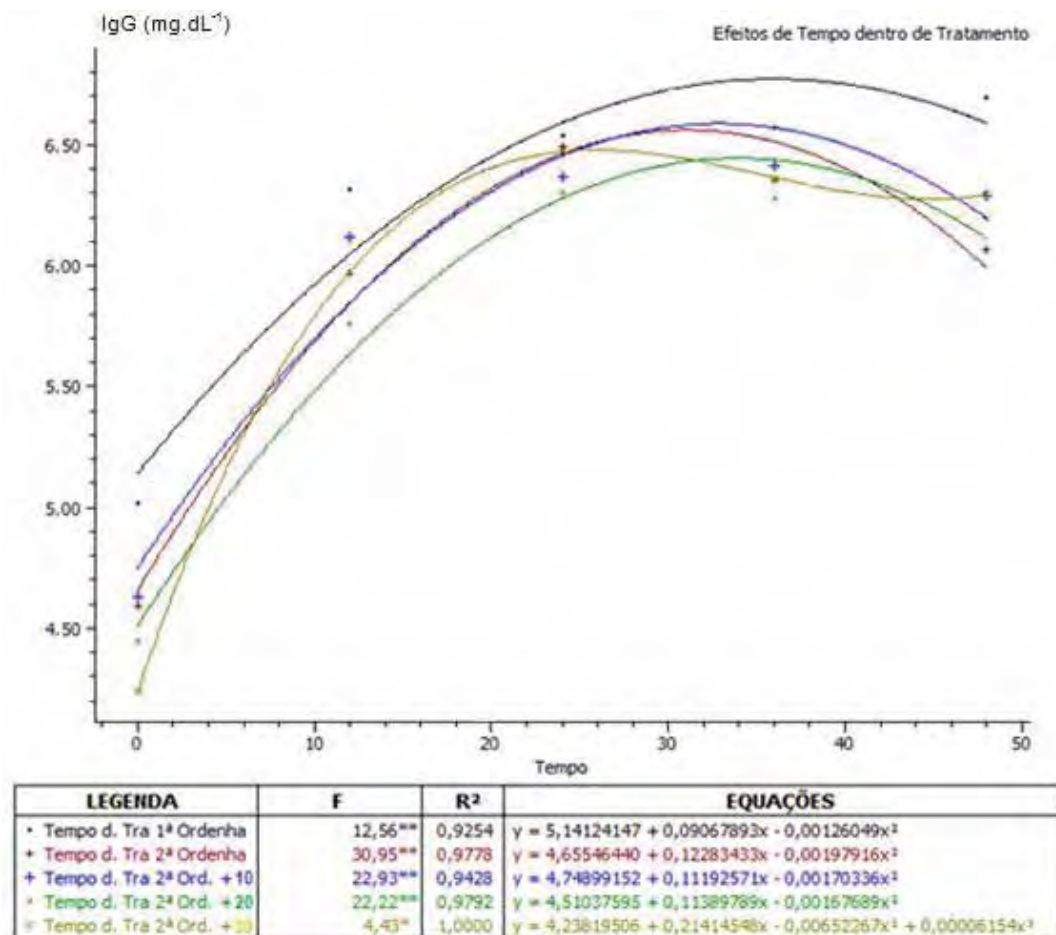


Figura 4. Representação gráfica das concentrações séricas de imunoglobulina G (mg.dL^{-1}) com valores transformados $\ln(x+1)$, de cabritos da raça Saanen alimentados com colostro de primeira e segunda ordenha adicionado de "leite" de soja durante as primeiras 48 horas pós-parto.

Loste et al. (2006) obtiveram valores séricos superiores ao presente estudo com 1.338 mg.dL^{-1} de IgG às 24 h pós-parto em cabritos alimentados com colostro adicionado de 1 g.L^{-1} de inibidor de tripsina. Ferreira (2012) observou 3.180 mg.dL^{-1} e 2.710 mg.dL^{-1} de IgG às 24 h pós-parto no soro de bezerras alimentadas com colostro bovino adicionado de 50 mg de inibidor de tripsina purificado e proveniente da fração albumina da soja, respectivamente.

Outros autores relataram concentrações séricas elevadas de IgG em cabritos, como Arguello et al. (2004) que obtiveram valor de 1.518 mg.dL^{-1} às 24 h, Silva et al. (2007) encontraram níveis entre 680 a 2.800 mg/dL às 24 pós-parto, Mellado et al. (2008) observaram 1.011 mg.dL^{-1} após a ingestão do colostro, Castro et al. (2009) constataram 1.850 mg.dL^{-1} em cabritos provenientes de parto duplo e Yanaka et al. (2012b) mostraram 3.166 mg.dL^{-1} de IgG no soro de cabritos com dois dias pós-parto.

O teor de imunoglobulina G (Figura 4) verificado no presente estudo correlacionou-se de forma positiva com a atividade da enzima GGT (Figura 2), ($r = 0,62$) em função da absorção das proteínas colostrais. Em bezerros o nível mínimo de IgG sérico considerado é de 800 mg.dL^{-1} para adequada proteção do animal.

O momento mais seguro para verificar a absorção de IgG é 24 h após o nascimento, sendo que após esse momento, não ocorre mais a absorção dessa proteína. A partir dos resultados obtidos, observou-se que o ponto de corte de IgG para que ocorra a transferência de imunidade passiva em caprinos é de 500 a 600 mg.dL^{-1} . Apesar da baixa concentração de IgG nesse estudo, devido à diluição do colostro com o “leite” de soja, nenhum dos tratamentos prejudicou a transferência de imunidade passiva, portanto, recomenda-se a inclusão do “leite” de soja.

Não foram verificadas ocorrências de diarreia e febre nos animais durante o período de colostragem, apesar da utilização do “leite” de soja que contém inibidores de tripsina ativos. Cabritos da raça Murciano-Granadina alimentados com colostro caprino adicionado de 1 g.L^{-1} de inibidor de tripsina, não apresentaram sinais clínicos de doenças e nenhuma mortalidade (RAMOS et al., 2010).

A função desses inibidores é proteger a imunoglobulina contra a proteólise da enzima digestiva tripsina, disponibilizando maior concentração de IgG para ser

absorvida. Os volumes de “leite” de soja com inibidores ativos utilizados não interferiram significativamente nas quantidades absorvidas de IgG, mas foram suficientes para prevenir a diarreia nos primeiros dias de vida. A adição do inibidor de tripsina da soja no colostro caprino não apresentou diferenças nos parâmetros hematológicos, proteínas séricas ou desempenho dos animais, conforme Ramos et al. (2010).

O colostro de primeira ordenha apresentou um teor de IgG apropriado para garantir proteção ao neonato. Apesar da utilização do colostro de segunda ordenha com níveis de IgG inferiores e a adição do “leite” de soja, não houve falha na transferência de imunidade passiva, considerando-se que os animais foram mantidos em condições higiênico-sanitárias adequadas. Quando essas condições não forem atendidas, recomenda-se a utilização do colostro de primeira ordenha.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo permitem as seguintes conclusões:

- A utilização do colostro de segunda ordenha adicionado de “leite” de soja, propicia ao neonato uma adequada transferência de imunidade passiva, quando as condições higiênico-sanitárias são apropriadas.

- A adição do “leite” de soja possibilita a incorporação de inibidores de tripsina ao colostro caprino com inibidores menos ativos, de uma maneira prática por ser de fácil preparo.

- A mistura de “leite” de soja e colostro não altera as atividades das enzimas GGT e ALP, e nem os teores de minerais no soro lácteo proveniente do colostro caprino indicando, indiretamente, adequada ingestão de imunoglobulinas colostrais. A determinação da atividade de GGT em propriedades leiteiras, onde há dificuldade em dosar a IgG, é um teste útil para determinar a imunidade passiva em cabritos neonatos.

- Colostro de segunda ordenha adicionado de 20 e 30% de “leite” de soja tem a concentração de IgG diminuída, propiciando teor sérico adequado na faixa de 500 a 900 mg.dL⁻¹; ademais, a diluição é compensada pela incorporação dos inibidores de tripsina ativos da soja.

- A concentração de transferrina no sangue dos animais não foi influenciada, mesmo com a adição de 30% de “leite” de soja, assim, sua ação protetora não foi prejudicada.

- Os teores séricos dos minerais indicam a importância da ingestão do colostro nas primeiras horas de vida do animal, com aproveitamento dos nutrientes, sendo o colostro de primeira ordenha considerado ideal para garantir proteção ao recém-nascido.

7. REFERÊNCIAS

ÁLVAREZ, V.; ARRANZ, J.; DALTABUIT-TEST, M.; LEGINAGOIKOA, I.; JUSTE, R. A.; AMORENA, B.; DE ANDRÉS, D.; LUJÁN, L. L.; BADIOLA, J. J.; BERRIATUA, E. Relative contribution of colostrums from Maedi-Visnavirus (MVV) infected ewes to MVV-seroprevalence in lambs. **Research in Veterinary Science**, England, v. 78, p. 237–243, 2005.

ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R. **Ingestão do colostro diminui mortalidade em caprinos e ovinos**, 25 maio. 2004. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/52147/1/Midia-Ingestao-do-colostro.pdf>>. Acesso em: 25 jan. 2012.

ANDRADE, M. C. R. **Avaliação da dinâmica de absorção do colostro em caprinos das raças Saanen e Moxotó explorados no semi-árido cearense**. 2008. 60 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Centro de Ciências Agrárias e Biológicas, Universidade Estadual Vale do Acaraú, Sobral, 2008.

ARGUELLO, A.; CASTRO, N.; ZAMORANO, M. J.; CASTROALONSO, A.; CAPOTE, J. Passive transfer of immunity in kid goats fed refrigerated and frozen goat colostrum and commercial sheep colostrum. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 54, p. 237–241, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2003.11.008>>.

ARGUELLO, A.; CASTRO, N.; ÁLVAREZ, S.; CAPOTE, J. Effects of the number of lactations and litter size on chemical composition and physical characteristics of goat colostrums. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 64, p. 53–59, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.03.016>>.

ARMOUR, J. C.; PEREA, R. L. C.; BUCHAN, W. C.; GRANT, G. Protease inhibitors and lectins in soya beans and effects of aqueous heat-treatment. **Journal of Science Food and Agriculture**, London, v. 78, n. 2, p. 225-231, 1998.

BARBOSA, J. C.; MALDONADO JR., W. **AgroEstat**: sistema para análises estatísticas de ensaios agronômicos. Versão 1.1.0.701. Jaboticabal; FCAV/UNESP, 2012.

BAROZA, P. F. J. **Proteínas, enzimas e minerais na secreção láctea de cabras e vacas, nos primeiros 30 dias pós-parto, congelada ou não.** 2007. 90 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal. 2007.

BATISTA, I. F. C.; OLIVA, M. L. V.; ARAUJO, M. S.; SAMPAIO, M. U.; RICHARDSON, M.; FRITZ, H.; SAMPAIO, C. A. M. Primary structure of a Kunitz-type trypsin inhibitor from *Enterolobium contortisliquum* seeds. **Phytochemistry**, Oxford, v. 41, n. 4, p. 1017-1022, 1996.

BERNO, L. I.; GUIMARÃES-LOPES, T. G.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Avaliação da composição centesimal, digestibilidade e atividade inibitória de tripsina em produtos derivados de soja (*Glycine Max*). **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 18, n. 3, p. 277-282, 2007.

BLOOD, D. C. **Manual de medicina veterinária.** Interamericana McGraw-Hill, Philadelphia. 1994. 790 p.

BRANDON, D. L.; BATES, A. H.; FRIEDMAN, M. Antigenicity of soybean protease inhibitors. In: TROLL, W.; KENNEDY, A. R. (Ed.). **Proteinase inhibitors as cancer chemopreventive agents.** New York: Plenum, 1993. p. 107-129.

BRAUN, J. P.; RICO, A. G.; BERNARD, P.; THOUVENOT, J. P.; BONNEFIS, M. J. Tissue and blood distribution of gammaglutamyltransferase in the lamb and in the ewe. **Research in Veterinary Science**, London, v. 25, n. 1, p. 25-37, 1978.

BRUNE, M. F. S. S.; PINTO, M. O.; PELUZIO, M. C. G.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. B. Avaliação bioquímico-nutricional de uma linhagem de soja livre do inibidor de tripsina *Kunitz* e de lectinas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 3, p. 657-663, 2010.

BULLEN, J. J.; ROGERS, H. J.; GRIFFITHS, E. Role of iron in bacterial infection. **Current Topics in Microbiology Immunology**, Berlin, v. 80, p. 1-35, 1978.

BUTLER, J. E. Bovine immunoglobulins: A review. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 52, n. 12, p. 1895-1909, 1969.

CABRAL, L. C.; WANG, S. H.; ARAUJO, F. B.; MAIA, L. H. Efeito da pressão de homogeneização nas propriedades funcionais do leite de soja em pó. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 17, n. 3, 1997. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20611997000300018&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 30 jan. 2013.

CAMPOS, O. F.; LIZIEIRE, R. S. Criação de bezerras de produção de leite In: SIMPÓSIO MINEIRO DE NUTRIÇÃO DE GADO DE LEITE, 44., 2002, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, 2002. p. 44-46.

CARLSSON, L. C. T.; WESTRIJM, B. R.; KARLSSON, B. W. Intestinal absorption of proteins by the neonatal piglet fed on sow's colostrum with either natural or experimentally eliminated trypsin-inhibiting activity. **Biology of the Neonate**, Basel, v. 38, n. 5, p. 309-314, 1980.

CARVALHO, M. R. B.; SGARBIERI, V. C. Heat treatment and inactivation of trypsin: chymotrypsin inhibitors and lectins from beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal Food Biochemistry**, Westport, v. 21, n. 3, p. 219-233, 1997.

CARVALHO, M. R. B.; KIRSCHNIK, P. G.; PAIVA, K. C.; AIURA, F. S. Avaliação da atividade dos inibidores de tripsina após digestão enzimática em grãos de soja tratados termicamente. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 3, p. 267-272, 2002.

CASTRO, N.; CAPOTE, J.; MORALES-DELANUEZ, A.; RODRÍGUEZ, C.; ARGUELLO, A. Effects of newborn characteristics and length of colostrums feeding period on passive immune transfer in goat kids. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 4, p. 1616-1619, 2009.

CERÓN, J. J.; ECKERSALL, P. D.; SUBIELA, S. M. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Veterinary Clinical Pathology**, Hoboken, v. 34, p. 85-99, 2005.

COSTA, J. N.; PEIXOTO, A. P. C.; KOHAYAGAWA, A.; FERREIRA, A. F. M. S. C.; CASSETARI, M. L.; CROCCI, A. J. Influência do desenvolvimento etário e da suplementação com vitamina E (acetato de DL-alfa-tocoferol) no metabolismo oxidativo dos neutrófilos de bovinos da raça Holandesa (*Bos taurus*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 41, n. 5, p. 293-298, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/bjvras/v41n5/25252.pdf>>. Acesso em: 10 mai. 2011.

DUKES, H. H. **Fisiologia dos animais domésticos**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 856 p.

ECKERSALL, P. D. Proteins, proteomics, and the dysproteinemias. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**, 6. ed. San Diego: Academic Press. 2008. Cap. 5, p. 117-155.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. EMBRAPA. **Soja na alimentação**. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/soja_alimentacao/index.php?pagina=6>. Acesso em: 14 jan. 2012.

FAGLIARI, J. J.; OLIVEIRA, E. C.; PEGORER, M. F.; FERRANTE JÚNIOR, L. C.; CAMPOS FILHO, E. Relação entre o nível sérico de gamaglobulinas e as atividades de gamaglutamiltransferase, fosfatase alcalina e aspartato aminotransferase de bezerros recém-nascidos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 48, n. 2, p. 105-112, 1996.

FAGLIARI, J. J.; RIZOLLI, F. W.; SILVA, S. L.; SILVA, D. G. Proteinograma sérico de bezerros recém-nascidos da raça Holandesa obtido por eletroforese em gel de poliacrilamida. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, n. 3, p. 450-453, 2006.

FEITOSA, F. L. F.; BIRGEL, E. H.; MIRANDOLA, R. M. S.; PERRI, S. H. V. Diagnóstico de falha de transferência de imunidade passiva em bezerros através da determinação de proteína total e de suas frações eletroforéticas, imunoglobulinas G e M e da atividade da gama glutamiltransferase no soro sanguíneo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, p. 251-255, 2001.

FERNÁNDEZ, A.; RAMOS, J. J.; LOSTE, A.; FERRER, L. M.; FIGUERAS, L.; VERDE, M. T.; MARCA, M. C. Influence of colostrum treated by heat on immunity function in goat kids. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 29, p. 353-364, 2006.

FERREIRA, M. S. F. **Inibidor de tripsina da soja na transferência de imunidade passiva de bezerras da raça holandesa**. 2012. 54 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2012.

GEORGIEV, I. P. Differences in chemical composition between cow colostrum and milk. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, Stara Zagora, v. 11, n. 1, p. 3-12, 2008.

GÓES, C. D. M. M. B.; TEIXEIRA, M. F. S.; ALVES, F. S. F.; BATISTA, L. M.; BEVILAQUA, C. M. L. Avaliação da transferência passiva de anticorpos em cabritos alimentados com três diferentes tipos de colostro. **Ciência Animal**, Fortaleza, v. 8, n. 2, p. 57-61, 1998.

HALLIDAY, R. Variation in immunoglobulin transfer from ewes to lambs. **Annales de Recherches Veterinaires**, Versailles, v. 23, n. 2, p. 425-427, 1978.

JACOBSEN, S.; ANDERSEN, P. H. The acute phase protein serum amyloid A (SAA) as a marker of inflammation in horses. **Equine Veterinary Education**, v. 19, n. 1, p. 38-46, 2007.

JENSEN, P. T. Trypsin inhibitor and immunoglobulins in porcine colostrum. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Denmark, v. 19, n. 3, p. 475-477, 1978.

JENSEN, P. T.; PEDERSEN, K. B. The influence of sow colostrum trypsin inhibitor on the immunoglobulin absorption in newborn piglets. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Denmark, v. 23, n. 2, p. 161-168, 1982.

KAKADE, M. L.; SIMONS, N.; LIENER, I. E. An evaluation of natural vs. Synthetic substrates for measuring the antitryptic activity of soybean samples. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 46, p. 518-526, 1969.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**, 6. ed. San Diego: Academic Press. 2008. 904 p.

KINDLEIN, L.; PAULETTI, P.; BAGALDO, A. R.; MACHADO NETO, R. Efeito do fornecimento adicional de colostro sobre as concentrações séricas de IgG, PT e IGF-I de bezerros neonatos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 8, n. 4, p. 375-385, 2007.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, London, v. 227, n. 259, p. 680 - 685, 1970.
LIENER, I. E. Inactivation studies on the soybean hemagglutinin. **The Journal of Biological Chemistry**, Rockville, v. 233, n. 2, p. 401-405, 1958.

LIENER, I. E. Implications of antinutritional components in soybean foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 34, n. 1, p. 31-67, 1994.

LIENER, I. E.; KAKADE, M. L. Protease inhibitors. In: LIENER, I. E. **Toxic constituents of plant foodstuffs**. 2. ed. New York: Academic Press, 1980. p. 7-71.

LIMA, A. L. **Estudo da flutuação sérica de anticorpos maternos nos períodos pré e pós-parto e transferência de imunidade passiva em cabritos recém-nascidos utilizando colostro bovino e caprino**. 2008. 61 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

LIMA, A. L. **Flutuações de proteínas séricas e diarreia durante o processo de aquisição de proteção passiva em cabritas aleitadas com colostro caprino, bovino *in natura* e bovino liofilizado**. 2011. 110 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

LOSTE, A.; CASTRO, N.; FERRER, L. M.; ORTÍN, A.; FERNÁNDEZ, A.; ARGUELLO, A.; RAMOS, J. J.; FIGUERAS, L.; CALLEJAS, M. Efecto de la adición de inhibidor de la tripsina al colostro sobre la concentración de inmunoglobulinas en cabritos. In: JORNADAS CIENTÍFICAS, 31.; JORNADAS INTERNACIONALES DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE OVINOTECNIA Y CAPRINOTECNIA, 10., 2006, Zamora. **Anais...** Zamora: SEOC, 2006. p. 307-309.

MAIA, M. J. L.; ROSSI, E. A.; CARVALHO, M. R. B. Quality and yield of the soymilk of the production unit of soy derivatives - UNISOJA – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, Universidade Estadual Paulista. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 17, n. 1, p. 65-72, 2006.

MARQUES, A. V. S.; SOARES, P. C.; RIET-CORREA, F.; MOTA, I. O.; SILVA, T. L. A.; BORBA NETO, A. V.; SOARES, F. A. P.; ALENCAR, S. P. Teores séricos e hepáticos de cobre, ferro, molibdênio e zinco em ovinos e caprinos no estado de Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 5, p. 398-406, 2011.

MELLADO, M.; PITTROFF, W.; GARCIA, J. E.; MELLADO, J. Serum IgG, blood profiles, growth and survival in goat kids supplemented with artificial colostrum on the first day of life. **Tropical Animal Health and Production**, Amsterdam, v. 40, n. 2, p. 141–145, 2008.

MONTEIRO, M. R. P.; COSTA, N. M. B.; OLIVEIRA, M. G. A.; PIRES, C. V.; MOREIRA, M. A. Qualidade protéica de linhagens de soja com ausência do inibidor de tripsina *kunitz* e das isoenzimas lipoxigenases. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 2, p. 195-205, 2004.

MORENO-INDIAS, I.; SANCHÉZ-MACÍAS, D.; CASTRO, N.; MORALES-DELANUEZ, A.; HERNÁNDEZ- CASTELLANO, L. E.; CAPOTE, J.; ARGUELLO, A. Chemical composition and immune status of dairy goat colostrums fractions during the first 10 h after partum. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 103, n. 2-3, p. 220–224, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.09.015>>.

MORETTI, D. B. **Atividade de células entéricas de cordeiros recém-nascidos aleitados com colostro bovino e ovino**. 2008. 61 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

MORETTI, D. B.; NORDI, W. M.; LIMA, A. L.; PAULETTI, P.; SUSIN, I.; MACHADO-NETO, R. Lyophilized bovine colostrum as a source of immunoglobulins and insulin-like growth factor for newborn goat kids. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 145, n. 1, p. 223–229, 2012.

MORRICAL, D.; HARTWIG, N. R.; YOUNGS, C. **Colostrum and health of newborn lambs**. (Fact Sheet, 12, Animal Science, 9). Ames. Iowa State University, 1995.

MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. **The veterinary journal**, London, v. 168, n. 1, p. 28-40, 2004.

NARAYAN, O.; CORK, L. C. Caprine arthritisencephalitis virus. In: DINTER, Z. & MOREIN, B. (Ed.). **Virus infections of ruminants**. Amsterdam, 1990, p. 441-452.

PAIVA, F. A.; NEGRÃO, J. A.; BUENO, A. R.; SARAN-NETTO, A.; LIMA, C. G. Efeito do manejo de fornecimento de colostro na imunidade passiva, cortisol e metabólitos plasmáticos de bezerros Holandeses. **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, n. 5, p. 739-743, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352006000500006>>.

PERINO, L. J., SUTHERLAND, R. L., WOOLLEN, N. E. Serum gamma-glutamyltransferase activity and protein concentration at birth and after suckling in calves with adequate and inadequate passive transfer immunoglobulin G. **American Journal of Veterinary Research**, v. 54, n. 1, p. 56-59, 1993.

PETERSEN, H. H.; NIELSEN, J. P.; HEEGAARD, P. M. H. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. **Veterinary research**, v. 35, p. 163-187, 2004.

PIRES JÚNIOR, J. B. **Avaliação da transferência de imunidade passiva em bezerros recém-nascidos oriundos de partos distócicos obtidos por cesariana**. 2009. 48 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2009.

QUIGLEY, J. D.; MARTIN, K. R.; DOWLEN, H. H.; LAMAR, K. C. Addition of soybean trypsin inhibitor to bovine colostrum: effects on serum immunoglobulin concentrations in Jersey calves. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 78, n. 4, p. 886-892. 1995a.

QUIGLEY, J. D.; MARTIN, K. R.; DOWLEN, H. H. Concentrations of trypsin inhibitor and immunoglobulins in colostrum of Jersey cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 78, n. 7, p. 1573-1577, 1995b.

RACKIS, J. J.; GUMBMANN, M. R. Protease inhibitors: physiological properties and nutritional significance. In: ORY, R. L. **Antinutritional and natural toxicants in foods**. Westport: Food & Nutrition Press, 1982. p. 203-237.

RAMOS, J. J.; LOSTE, A.; FERRER, L. M.; FERNÁNDEZ, A.; CASTRO, N.; ORTÍN, A.; VERDE, M. T.; ARGUELLO, A.; FIGUERAS, L. Effect of addition of soybean trypsin inhibitor to colostrum on immunological status in goat kids. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Munique, v. 94, n. 1, p. 93-98, 2010.

RAYAS-DUARTE, P.; BERGERON, D; NIELSEN, S. S. Screening of heat-stable trypsin inhibitor in dry beans and their partial purification from great Northern beans (*Phaseolus vulgaris*) using anhydro trypsin sepharose affinity chromatography. **Journal Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 40, n. 2, p. 32-42, 1992.

ROCHA, T. G. **Avaliação da transferência de imunidade passiva em bezerros de vacas da raça Canchim.** 2010. 108 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2010.

RUDOVSKY, A.; LOCHER, L.; ZEYNER, A.; SOBIRAJ, A.; WITTEK, T. Measurement of immunoglobulin concentration in goat colostrum. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 74, n. 1, p. 265–269, 2008.

SANDHOLM, M.; HONKANEN-BUZALSKI, T. Colostral trypsin-inhibitor capacity in different animal species. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Denmark, v. 20, n. 4, p. 469-476, 1979.

SANTANA, A. F.; SILVA, M. H.; ANUNCIAÇÃO, A. V. M.; GUARDIANI, B. P.; RIBEIRO, A. C.; BRAZIL, B. N.; AGUIAR C. S. Transferência de imunidade passiva em cabritos. In: CONGRESSO PERNAMBUCANO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 5.; SEMINÁRIO NORDESTINO DE CAPRINO-OVINOCULTURA, 6., 2003, Recife. **Anais...** Recife: SPEMVE, 2003. p. 389-390.

SAUT, J. P. E.; SOUZA, R. M.; BIRGEL, D. B.; POGLIANI, F. C.; CAVALCANTE, C. Z.; MIYASHIRO, S. I.; FAGLIARI, J. J.; BIRGEL JUNIOR, E. H. Influência do puerpério sobre o proteinograma sérico de caprinos da raça Saanen obtido por eletroforese em gel de poliacrilamida. **Semina: ciências agrárias**, Londrina, v. 30, n. 3, p. 661-670, 2009.

SHELDRAKE, R. F.; HUSBAND, A. J. Intestinal uptake of intact lymphocytes by neonatal rats and lambs. **Research in Veterinary Science**, London, v. 39, n.1, p. 10-15, 1985.

SILVA, S. L. **Influência dos fatores regionais, raciais, etários e de sexo em alguns constituintes bioquímicos do soro sanguíneo de caprinos sadios criados nos Estados de São Paulo e Paraíba.** 2001. 70 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2001.

SILVA, S. L. **Constituintes séricos e hematológicos de caprinos neonatos alimentados com colostros de cabras ou de vaca.** 2005. 68 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2005.

SILVA, S. L.; FAGLIARI, J. J.; BAROZA, P. F. J.; CESCO, F. T. R. S.; JORGE, R. L. N. Avaliação da imunidade passiva em caprinos recém-nascidos alimentados com colostro de cabras ou colostro de vacas. **Ars VETERINARIA**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 81-88, 2007.

SIMÕES, S. V. D.; COSTA, R. G.; SOUZA, P. M.; MEDEIROS, A. N.; VILAR, A. L. T. Imunidade passiva, morbidade neonatal e desempenho de cabritos em diferentes manejos de colostro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 4, p. 219-224, 2005.

SMITH, K. L.; SCHANBACHER, F. L. Lactoferrin as a factor of resistance to infection of the bovine mammary gland. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 170, n. 10, p. 1224– 1227, 1977.

SOARES FILHO, P. M. **Determinações de imunoglobulinas G, inibidores de tripsina e lactoferrina em colostros de vacas mestiças Holandês-Zebu**. 2000. 49 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000.

STAHLHUT, R. W.; HYMOWITZ, T. Variation in the low molecular weight proteinase inhibitors of soybeans. **Crop Science**, Madison, v. 23, n. 4, p. 766-769, 1983.

TIZARD, I. R. Imunidade no feto e no recém-nascido. In: **Imunologia veterinária: uma introdução**. 6. ed. São Paulo: Roca, 2002. cap. 19, p. 233-246.

UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. **The mineral nutrition of livestock**. 3rd. ed. New York: CAB International, 1999. 614 p.

VILAR, A. L. T.; COSTA, R. G.; SOUZA, P. M.; MEDEIROS, A. N.; QUEIROGA, R. C. R. E; FERNANDES, M. F. Efeito da ordem de parição e do período de ordenha na produção e composição do colostro e do leite de transição de cabras Saanen. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 9, p. 1674-1678, 2008.

WEAVER, D. M.; TYLER, J. W.; VANMETRE, D. C.; HOSTETLER, D. E.; BARRINGTON, G. M. Passive transfer of colostrum immunoglobulins in calves. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Baltimore, v. 14, n. 6, p. 569-577, 2000.

YANAKA, R. **Determinação do período de absorção de imunoglobulinas pela mucosa intestinal de cabritos:** influência do tempo decorrido entre o nascimento e a ingestão de colostro nos parâmetros bioquímicos, hemogasométricos e imunológicos de caprinos recém-nascidos. 2009. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araçatuba, 2009.

YANAKA, R.; CAMARGO, D. G.; SANTOS, W. A.; CAVASSANO, B. S.; BOVINO, F.; MENDES, L. C. N.; PEIRÓ, J. R.; FEITOSA, F. L. F. Glicemia, proteinograma e perfil de alguns componentes bioquímicos séricos de cabras da raça Boer no pós-parto. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 49, n. 1, p. 39-45, 2012a.

YANAKA, R.; CAMARGO, D. G.; BOVINO, F.; SANTOS, W. A.; DÓCUSSE, M. R.; CAVASSANO, B. S.; FEITOSA, F. L. F. Período de absorção intestinal de macromoléculas em cabritos recém-nascidos após a ingestão de colostro bovino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 8, p. 794-802, 2012b.

8. IMPLICAÇÕES

Os inibidores de tripsina são relevantes na transferência de imunidade passiva aos recém-nascidos, por manter a integridade das imunoglobulinas, impedindo a ação das enzimas pancreáticas sobre as proteínas do colostro.

Animais hipogamaglobulinêmicos são dependentes da ingestão e absorção do colostro, em decorrência do tipo de placenta que impede a passagem de anticorpos para o feto durante a gestação. Quando os neonatos não conseguem absorver quantidades suficientes de anticorpos colostrais, chegam a condição imune denominada de falha na transferência de imunidade passiva. Trabalhos realizados mostram que a taxa de bezerros hipogamaglobulinêmicos é geralmente alta.

Diante do exposto, futuras investigações devem ser realizadas com a adição de inibidores de tripsina provenientes do “leite” de soja ao colostro, o que pode ser capaz de proteger as imunoglobulinas da degradação e promover expressiva melhora no desenvolvimento do sistema imune de animais hipogamaglobulinêmicos que apresentam baixa absorção de IgG nas primeiras horas de vida.

Do ponto de vista de manejo em rebanhos leiteiros de caprinos, a utilização do colostro de segunda ordenha torna-se uma fonte alternativa para as propriedades que possuem animais portadores da CAE, onde a disponibilidade de colostro é inferior.

APÊNDICES

APÊNDICE A

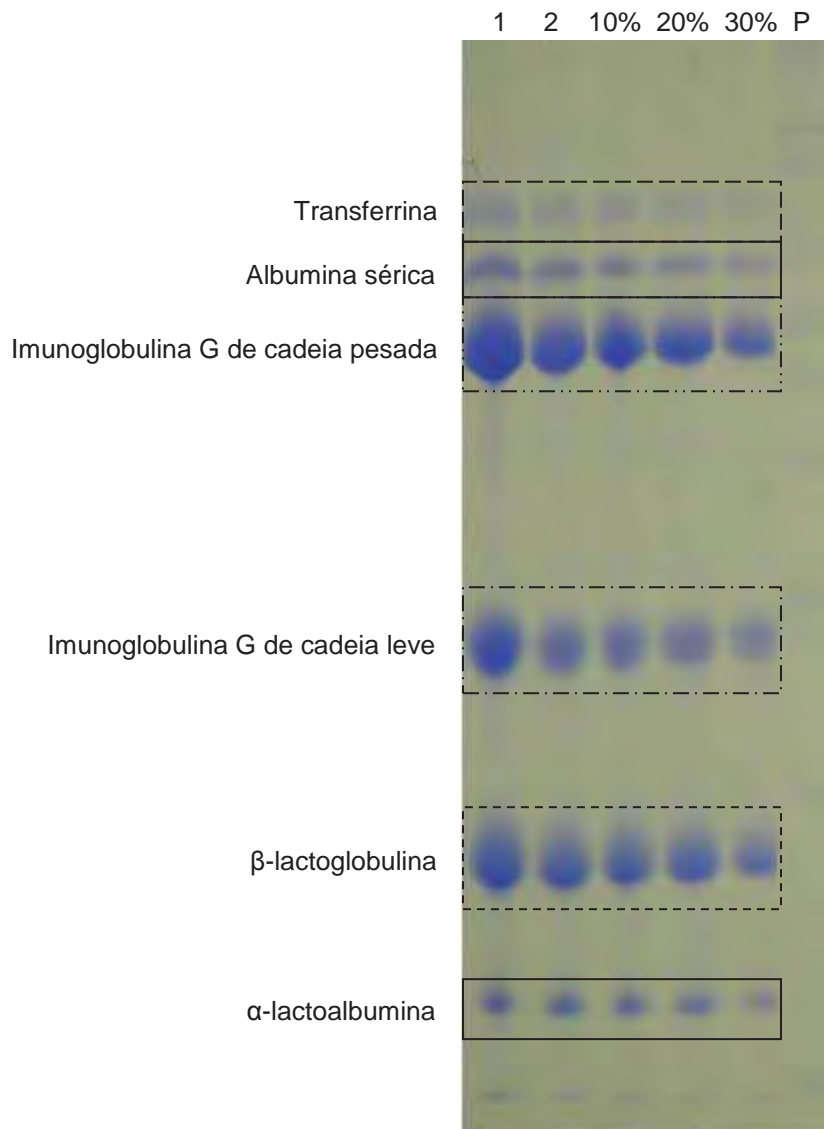
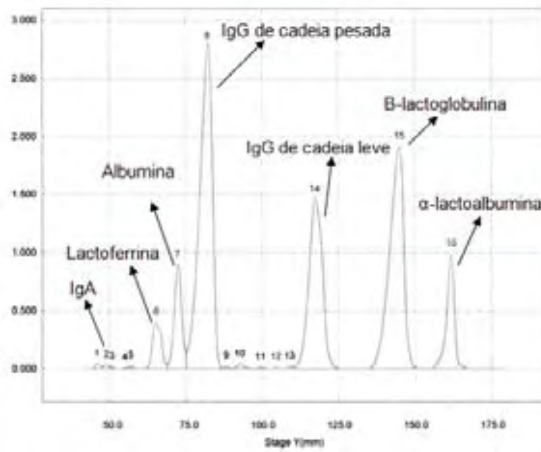


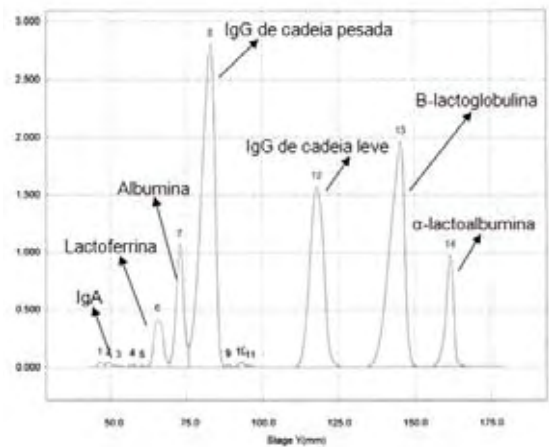
Figura 1A. Eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) de amostras de soro lácteo de cabras da raça Saanen proveniente do colostro de primeira (1), segunda (2) ordenha, e mistura de 10%, 20% e 30% de “leite” de soja ao colostro de segunda ordenha e solução marcadora (Sigma⁴) (P).

4 Sigma, St Louis, MO, USA.

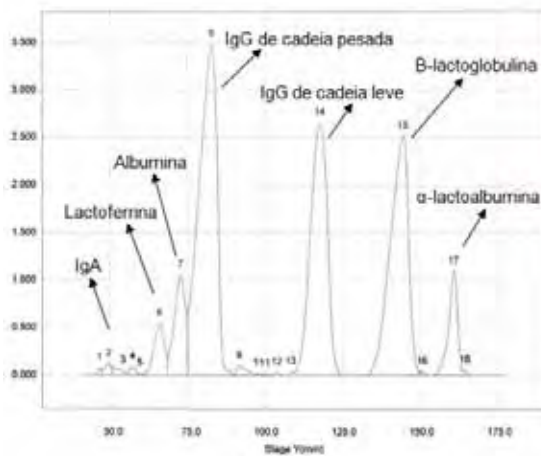
a)



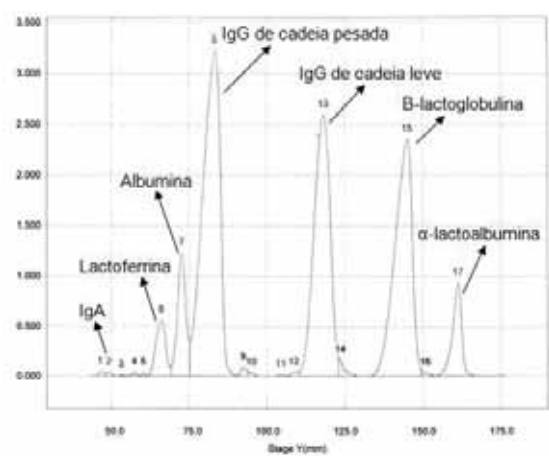
b)



c)



d)



e)

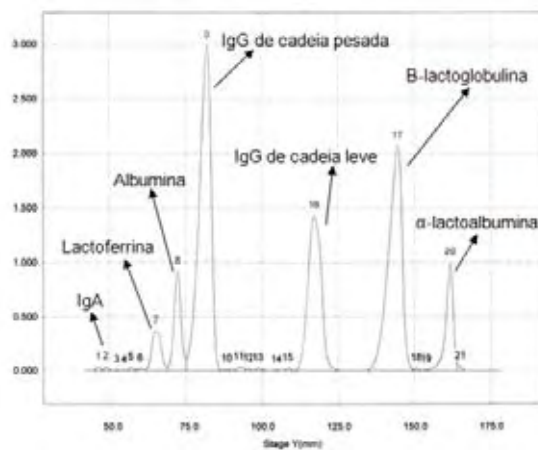


Figura 2A. Sequência de traçados densitométricos de amostras de soro lácteo de cabras da raça Saanen proveniente do colostro de primeira (a), segunda (a) ordenha, e mistura de 10% (c), 20% (d) e 30% (e) de “leite” de soja ao colostro de segunda ordenha.

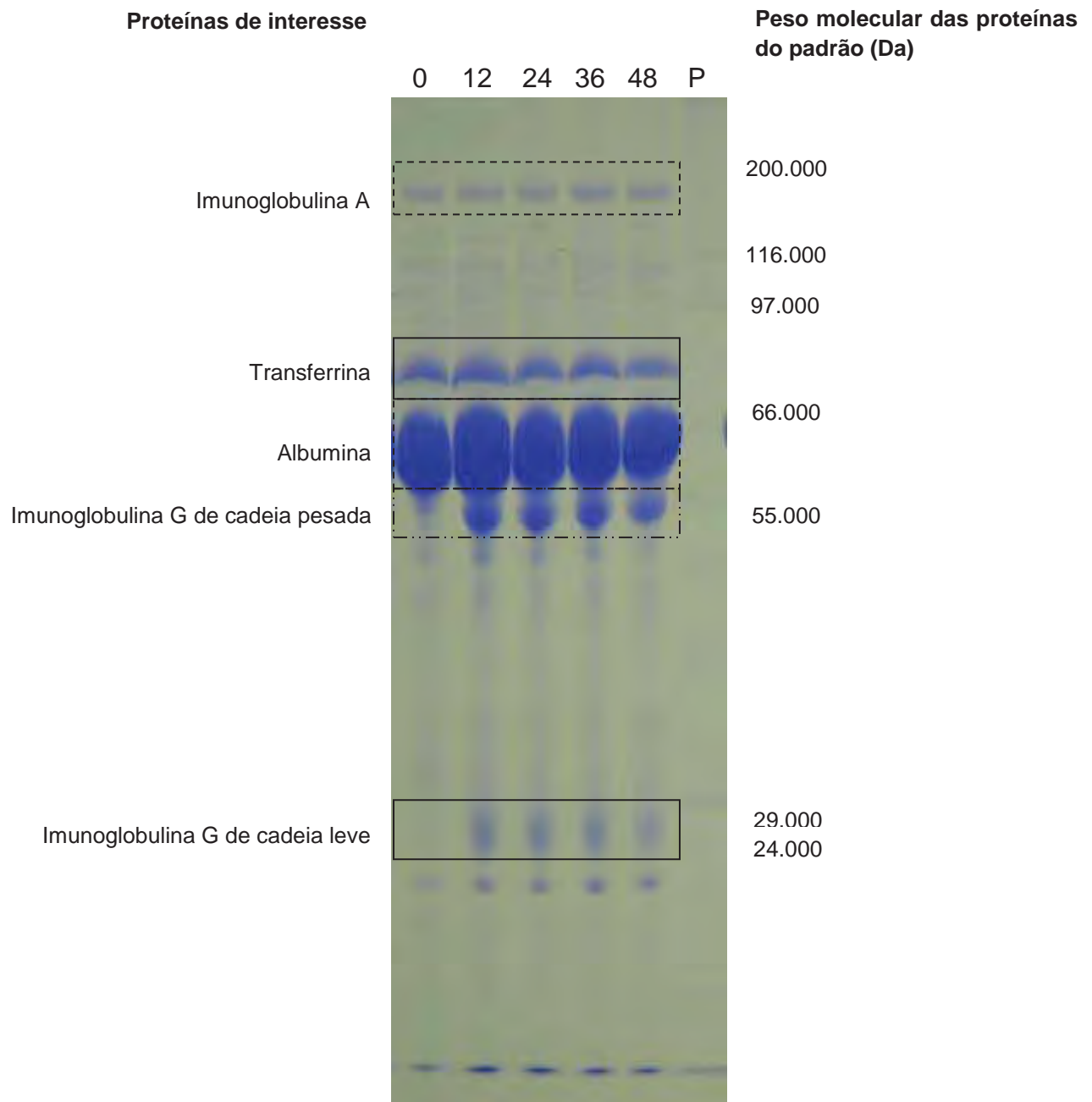


Figura 3A. Eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) de amostras de soro sanguíneo de cabrito da raça Saanen (2ª Ord. + 10%) antes da ingestão de colostro e 12, 24, 36 e 48 horas após a ingestão de colostro e solução marcadora (Sigma⁵) (P).

⁵ Sigma, St Louis, MO, USA.

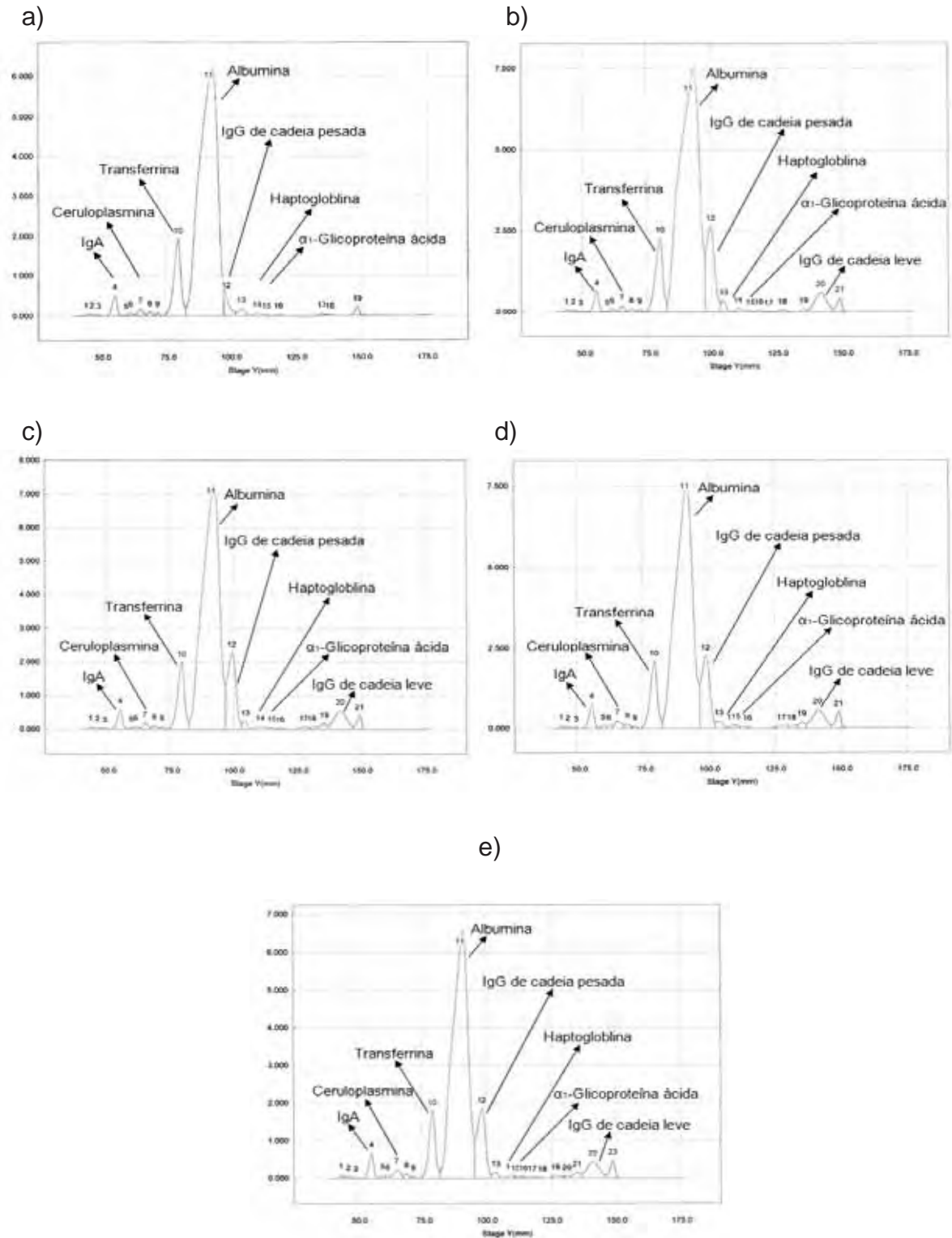


Figura 4A. Sequência de traçados densitométricos de amostras de soro sanguíneo de cabrito da raça Saanen (2^a Ord. + 10%) antes da ingestão de colostro (a) e 12 (b), 24 (c), 36 (d) e 48 horas (e) após o nascimento e ingestão de colostro.