

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**COMPOSIÇÃO, CELULARIDADE E PERFIL BIOQUÍMICO DO
LEITE DE VACAS HOLANDESAS PRIMÍPARAS E PLURÍPARAS
DURANTE AS FASES DA LACTAÇÃO**

Daniely Dorati Alves
Médica Veterinária

2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**COMPOSIÇÃO, CELULARIDADE E PERFIL BIOQUÍMICO DO
LEITE DE VACAS HOLANDEAS PRIMÍPARAS E PLURÍPARAS
DURANTE AS FASES DA LACTAÇÃO**

Discente: Daniely Dorati Alves

Orientador: Prof. Dr. José Corrêa de Lacerda Neto

Coorientadora: Profa. Dra. Daniela Gomes da Silva

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 Ciências Veterinárias (Saúde Animal).

2023

A474c	Alves, Daniely Dorati Composição, celularidade e perfil bioquímico do leite de vacas Holandesas primíparas e pluríparas durante as fases da lactação / Daniely Dorati Alves. -- Jaboticabal, 2023 45 p. : il., tabs. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal Orientador: José Corrêa de Lacerda Neto Coorientadora: Daniela Gomes da Silva 1. CCS. 2. CMT. 3. Estágio de lactação. 4. Ordem de parto. 5. Soro lácteo. I. Título.
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: COMPOSIÇÃO, CELULARIDADE E PERFIL BIOQUÍMICO DO LEITE DE VACAS HOLANDEAS PRIMÍPARAS E PLURÍPARAS DURANTE AS FASES DA LACTAÇÃO

AUTORA: DANIELY DORATI ALVES

ORIENTADOR: JOSÉ CORRÊA DE LACERDA NETO

COORDINADORA: DANIELA GOMES DA SILVA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, área: Saúde Animal pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. DANIELA GOMES DA SILVA (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
DANIELA GOMES DA SILVA
Data: 08/01/2024 08:12:39-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. ANDRÉ MARCOS SANTANA (Participação Virtual)
Departamento de Medicina Veterinária / Universidade Estadual de Maringá (UEM)

Documento assinado digitalmente
ANDRÉ MARCOS SANTANA
Data: 09/01/2024 16:44:07-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Profa. Dra. ANNELISE CARLA CAMPESI DOS SANTOS (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
ANNELISE CARLA CAMPESI DOS SANTOS
Data: 11/01/2024 11:09:05-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Jaboticabal, 16 de novembro de 2023

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Daniely Dorati Alves – nascida na cidade de Jaboticabal, São Paulo, no dia 09 de dezembro de 1996. Médica Veterinária graduada pela Faculdade Dr. Francisco Maeda - FAFRAM, início em fevereiro de 2015 e término em dezembro de 2019. Realizou estágio curricular no ano de 2019 na área de Sistemas Integrados de Produção Pecuária, na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA Pecuária Sudeste. Realizou Treinamento Técnico – TT em Práticas e Estratégicas para Mitigação das Emissões de Gases de Efeito Estufa em Sistema de Pastagem do Sudeste Brasileiro, com início em julho de 2020 e término em setembro de 2021, na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA Pecuária Sudeste. Atualmente é mestranda pelo Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias (Saúde Animal) na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP, Câmpus Jaboticabal, com início em agosto de 2021, sob orientação do Prof. Dr. José Corrêa de Lacerda Neto e coorientação da Profa. Dra. Daniela Gomes da Silva, e bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES.

“Que os nossos esforços desafiem as impossibilidades. Lembrai-vos de que as grandes proezas da história foram conquistadas do que parecia impossível”.

Charles Chaplin

“Não havendo bois, o celeiro fica limpo, mas pela força do boi há abundância de colheitas”.

Provérbios 14:4

AGRADECIMENTOS

Meus agradecimentos dirigem-se:

A Deus e todas as forças que regem a nossa existência.

Aos meus pais, Cacilda Dorati e Donizete Aparecido Alves, pela minha criação, amor e dedicação.

A meu companheiro Ivanildo, por sempre me ajudar, apoiar e estar ao meu lado.

Ao Médico Veterinário Maurício Vital, pela amizade e infraestrutura disponibilizada para a condução do trabalho.

Ao Prof. Dr. José Corrêa de Lacerda Neto, orientador deste trabalho, pelo aceite e colaboração.

À Profa. Dra. Daniela Gomes da Silva, coorientadora deste trabalho, pela qual tenho muita admiração e que sou muito grata por toda a ajuda dada, e que me auxiliou imensamente neste experimento, sendo sempre muito gentil e prestativa.

Aos meus colegas que puderam contribuir para a conclusão deste trabalho, entre eles, Gabriel, Giovana e Mariana.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal – UNESP/FCAV, pelo suporte acadêmico.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias e à Seção Técnica de Pós-graduação, por toda ajuda durante o curso de Mestrado.

Aos membros da banca examinadora que contribuíram substancialmente para melhoria desta dissertação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo (Código de Financiamento 001).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

E a todas as pessoas que, de certa forma, contribuíram para a realização do meu Mestrado. Muito obrigada!

SUMÁRIO

	Página
CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....	ii
RESUMO.....	iii
ABSTRACT.....	iv
CAPÍTULO 1 – Considerações gerais.....	1
1. Introdução.....	1
2. Revisão de Literatura.....	2
3. Referências.....	8
CAPÍTULO 2 – Composição, celularidade e perfil bioquímico do leite de vacas Holandesas primíparas e pluríparas durante as fases da lactação.....	18
RESUMO.....	18
ABSTRACT.....	19
INTRODUÇÃO.....	20
MATERIAL E MÉTODOS.....	21
RESULTADOS.....	23
DISCUSSÃO.....	38
CONCLUSÕES.....	41
REFERÊNCIAS.....	41



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



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "**Composição, celularidade e perfil bioquímico do leite de vacas Holandesas primíparas e pluríparas durante as fases de lactação**", protocolo n.º 7758/23, sob a responsabilidade do Prof. Dr. JOSÉ CORRÊA DE LACERDA NETO, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 20 de setembro 2023.

Vigência do Projeto	01/10/2023 a 30/09/2024
Espécie / Linhagem	Bovina
Nº de animais	60
Peso / Idade	500-600 kg / 2 – 6 anos
Sexo	Fêmeas
Origem	Fazenda Particular

Jaboticabal, 20 de setembro de 2023.

Profa. Dra. Paola Castro Moraes
Vice-coordenadora em exercício – CEUA FCAV

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n CEP 14884-900 - Jaboticabal - SP - Brasil
Tel. 16 3209-7100 - www.fcav.unesp.br

COMPOSIÇÃO, CELULARIDADE E PERFIL BIOQUÍMICO DO LEITE DE VACAS HOLANDESAS PRIMÍPARAS E PLURÍPARAS DURANTE AS FASES DA LACTAÇÃO

RESUMO - O objetivo do estudo foi verificar a influência da ordem de parto e do estágio da lactação na composição e na contagem de células somáticas do leite e no perfil bioquímico do soro lácteo de vacas Holandesas primíparas e pluríparas na fase inicial (primeiro ao terceiro mês de lactação), fase intermediária (quarto ao sétimo mês de lactação) e fase final da lactação (oitavo ao décimo mês de lactação). Para isso, foi feita a triagem de 236 quartos mamários de 68 fêmeas lactantes, primíparas e pluríparas, com 16 a 290 dias em lactação, sem alterações na glândula mamária, negativos no teste da caneca de fundo escuro e no *California Mastitis Test* (CMT), e coletado igual número de amostras de leite para a determinação dos teores de gordura (GORD), proteína (PROT), lactose (LACT), sólidos totais (ST) e extrato seco desengordurado (ESD), pelo método de infravermelho, e contagem de células somáticas (CCS), pelo método de citometria de fluxo, em contador automático. Somente as amostras de leite com CCS < 200.000 células/mL, de 58 fêmeas lactantes, foram selecionadas para o estudo (n=200) e alocadas em três grupos, de acordo número de lactação dos animais: amostras de leite de fêmeas de primeira lactação (G1; n=76), amostras de leite de fêmeas com duas ou três lactações (G2; n=73) e amostras de leite de fêmeas com quatro a seis lactações (G3; n=51) e em três momentos, de acordo com o estágio de lactação (fase inicial, fase intermediária e fase final). Após a obtenção do soro lácteo, foram determinadas as atividades das enzimas gamaglutamiltransferase e fosfatase alcalina e as concentrações de proteína total, albumina, cálcio total, fósforo, magnésio, ferro, cloretos, sódio, potássio e cálcio ionizado. Houve influência da ordem de parto e da fase da lactação na CCS do leite das fêmeas primíparas (G1) e pluríparas (G2 e G3), enquanto que a composição do leite (GORD, PROT, LACT e ST) foi influenciada apenas pela ordem de parto. O estágio de lactação influenciou todos os parâmetros bioquímicos avaliados no soro lácteo. A ordem de parto também influenciou o perfil bioquímico do soro lácteo, exceto a concentração de ferro. Ressalta-se que a metodologia da amostragem utilizada no estudo, por quarto mamário e antes da ordenha, interferiu negativamente na mensuração dos teores de gordura do leite. O conhecimento mais detalhado das variações fisiológicas que influenciam a composição do leite pode contribuir para o estabelecimento de intervalos de valores de normalidade mais precisos e específicos para monitorar a saúde da glândula mamária.

Palavras-chave: CCS, CMT, estágio da lactação, ordem de parto, soro lácteo

COMPOSITION, CELLULARITY AND BIOCHEMICAL PROFILE OF MILK FROM PRIMIPAROUS AND PLURIPAROUS HOLSTEIN COWS DURING THE STAGES OF LACTATION

ABSTRACT - The aim of the study was to verify the influence of calving order and stage of lactation on milk composition, somatic cell count and biochemical profile of whey from primiparous and multiparous Holstein cows in initial phase (first to third month of lactation), intermediate phase (fourth to seventh month of lactation), and final phase of lactation (eighth to tenth month of lactation). For this, 236 mammary quarters from 68 lactating, primiparous and pluriparous females, with 16 to 290 days in lactation, with no changes in the mammary gland, negative in strip cup test and in California Mastitis Test (CMT), were screened and an equal number of milk samples were collected to determine fat (FAT), protein (PROT), lactose (LACT), total solids (TS) and defatted dry extract (DDE) contents, by infrared method, and somatic cell count (SCC), by flow cytometry, in automatic counter. Only milk samples with SCC < 200,000 cells/mL, from 58 lactating females, were selected for the study (n=200) and allocated into three groups, according to number of lactations of animals: milk samples from females with one lactation (G1; n=76), milk samples from females with two or three lactations (G2; n=73) and milk samples from females with four to six lactations (G3; n=51) and at three moments, according with the lactation stage (initial phase, intermediate phase and final phase). After obtaining the whey, gamma-glutamyltransferase and alkaline phosphatase activities, and total protein, albumin, total calcium, phosphorus, magnesium, iron, chlorides, sodium, potassium and ionized calcium concentrations were determined. There was an influence of calving order and lactation stage on SCC of milk samples from primiparous (G1) and pluriparous (G2 and G3) females, while milk composition (FAT, PROT, LACT and ST) was influenced only by order of calving. The lactation stage influenced all biochemical parameters evaluated in whey. Calving order also influenced biochemical profile of whey, except the iron concentration. It is noteworthy that sampling methodology used in the study, per mammary quarter and before milking, had a negative impact on measurement of milk fat content. More detailed knowledge of the physiological variations that influence milk composition can contribute to the establishment of more accurate and specific ranges of normal values to monitor the health of mammary gland.

Keywords: SCC, CMT, stage of lactation, calving order, whey

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1. Introdução

A cadeia produtiva do leite é uma das principais atividades econômicas do Brasil, com forte efeito na geração de emprego e renda. Presente em 98% dos municípios brasileiros, a produção de leite envolve mais de 1,3 milhões de produtores no campo, com destaque para as pequenas e médias propriedades, além de gerar aproximadamente milhões de empregos nos demais segmentos da cadeia. Em 2019, o valor bruto da produção primária de leite atingiu quase R\$35 bilhões, o sétimo maior dentre os produtos agropecuários nacionais (BRASIL, 2020; Silva et al., 2023). Já na indústria de alimentos, esse valor mais do que duplica, com o faturamento líquido dos laticínios atingindo R\$ 70,9 bilhões, atrás apenas dos setores de derivados de carne e beneficiados de café, chá e cereais (ABIA, 2020).

Os números expressivos demonstram a importância de um setor que vem passando por grande transformação ao longo das últimas duas décadas. Nesse período, a produção de leite aumentou quase 80% utilizando praticamente o mesmo número de vacas ordenhadas, graças à elevação da produtividade do rebanho. Muitas outras mudanças ocorreram na estrutura de produção, entre elas uma redução expressiva do número de produtores e a intensificação dos sistemas de produção. Graças à adoção de novas tecnologias foi possível um aumento significativo da produtividade dos animais, da terra e da mão-de-obra e consequentemente da escala de produção das fazendas (Rocha et al., 2020).

O Brasil é o quarto maior produtor mundial de leite (36 bilhões de litros/ano), com destaque para os estados de MG, PR, RS, SC, GO e SP, ficando atrás apenas dos Estados Unidos da América, Índia e China (FAO, 2022; IBGE, 2022).

A raça Holandesa é amplamente reconhecida como a líder mundial na produção de leite, sendo encontrada em praticamente todos os países com pecuária desenvolvida. Sua capacidade de produzir grandes quantidades de leite ao longo da lactação a torna extremamente lucrativa, impulsionado a demanda pela raça em todo o mundo (Augusto, 2023).

A composição do leite pode ser influenciada por diversos fatores como raça, estágio de lactação, ordem de lactação, manejo nutricional, saúde da glândula mamária e estações do ano (Dobranić et al., 2008). Assim, o presente estudo tem como objetivo verificar a influência dos fatores fisiológicos (ordem de parto e estágio da lactação) na composição do leite de vacas da raça Holandesa sem alterações no exame físico da glândula mamária e cujo leite manteve-se negativo ao teste da caneca de fundo escuro e CMT e com CCS < 200.000 células/mL.

2. Revisão de Literatura

A glândula mamária dos bovinos é composta por quatro quartos mamários distintos, cada um com uma complexidade de tecidos que desempenham funções essenciais para a produção e armazenamento do leite (Cruz, 2011).

A ejeção do leite fora da glândula mamária é um processo complexo que depende do mecanismo neuro-hormonal ou reflexo de ejeção do leite. Esse reflexo é instintivo e não está sob o controle consciente do animal. Basicamente, quando o mecanismo é ativado, ocorre a liberação de ocitocina na corrente sanguínea, o que faz com que as células mioepiteliais ao redor dos alvéolos se contraiam, forçando a expulsão do leite (Ribeiro, 2021).

Do ponto de vista fisiológico, o leite é um fluido biológico obtido da secreção das glândulas mamárias das fêmeas mamíferas com a finalidade de alimentar suas crias (Walstra e Jenness, 1986). Além de ser uma fonte rica em nutrientes, a secreção láctea também é composta por imunoglobulinas, enzimas, fatores de crescimento, hormônios e agentes antibacterianos (Sanches, 2023).

Legalmente, o leite é definido como o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2017). Ele deve ser livre de agentes patogênicos e contaminantes, com uma baixa contagem de células somáticas. Ademais, não deve conter sedimentos ou materiais estranhos, e seu sabor deve ser levemente adocicado e aromático (Sanches, 2023).

Já do ponto de vista físico-químico, o leite é uma solução aquosa de lactose, sais orgânicos e inorgânicos, no qual estão dispersas partículas coloidais de três tamanhos: proteínas do soro dissolvidas ao nível molecular, caseína dispersa como grandes agregados coloidais (micelas) (50 a 500 nm), e lipídeos emulsificados como grandes glóbulos (1 a 20 μm) (Fox, 2004).

O leite bovino é composto por uma parte líquida, representada pela água (87%), e uma parte sólida, que consiste em dois grupos de componentes: o extrato seco total (EST) ou sólidos totais (ST), que inclui gordura (3 a 4%), lactose (5%), proteínas (3,5%) e minerais (1,2%) e o extrato seco desengordurado (ESD), que engloba todos os componentes, exceto a gordura (Walstra et al., 2005; Ferreira et al., 2019). Já o soro lácteo se refere à parte líquida remanescente após a coagulação do leite. Sua composição difere do leite *in natura* porque a maior parte da caseína foi removida no processo de coagulação. Em relação aos sólidos totais do soro lácteo, aproximadamente 70% são compostos por lactose e 20% são constituídos pelas proteínas solúveis (Révillion et al., 2000; Oliveira, 2009; Ziegler e Sgarbieri, 2009).

Os principais minerais encontrados no leite são o cálcio e fósforo. Esses minerais são utilizados em grandes quantidades pelo animal neonato para o crescimento dos ossos e desenvolvimento dos tecidos moles. Como eles estão basicamente associados às micelas de caseína, o soro lácteo tem, relativamente, menores teores desses minerais em comparação com o leite *in natura* (González, 2001). O leite também contém pequenas quantidades de outros minerais encontrados no organismo animal, como ferro e cobre (Vidal e Saran Netto, 2018).

O leite também possui uma composição de sais minerais e eletrólitos diferente da encontrada no plasma sanguíneo devido à atividade secretória da glândula mamária. As concentrações de sódio e cloretos no leite são significativamente menores que as concentrações observadas no plasma, enquanto que as concentrações de cálcio, potássio, magnésio e fosfato são consideravelmente maiores (Zafalon e Nader Filho, 2007). Ademais, as concentrações de sódio, potássio e cloretos no leite constituem o segundo maior determinante do volume de água presente no leite, pela pressão osmótica desses íons, complementando o efeito da lactose na determinação do volume de água no leite (Vidal e Saran Netto, 2018).

As enzimas, um grupo de proteínas que têm a habilidade de acelerar os processos bioquímicos, são fortemente influenciadas pela temperatura e pelo pH. Geralmente possuem uma temperatura ótima de atividade entre 25°C e 50°C e acima dessa temperatura, elas iniciam o processo de desnaturação (inativação enzimática). Quanto ao pH, o valor ótimo depende de cada enzima. Assim, a presença ou ausência da atividade de certas enzimas também secretadas pela glândula mamária, como a fosfatase alcalina (FA) e gamaglutamiltransferase (GGT), são muito utilizadas para monitorar o tratamento térmico do leite (Vidal e Saran Netto, 2018). Além disso, a atividade da GGT também pode ser utilizada para monitorar a transferência de imunidade passiva nos ruminantes recém-nascidos (Feitosa et al., 2010).

Atualmente, a qualidade do leite é o fator mais importante na seleção de animais para a produção leiteira. Além da qualidade microbiológica do leite, o volume de sólidos totais, representado principalmente pelos teores de gordura e proteínas, e a quantidade produzida por lactação também são levados em consideração. Nesse contexto, a raça Holandesa de pelagem preta e branca se destaca por sua alta produção, qualidade e facilidade de manejo. Por esse motivo, é uma das raças mais valorizadas para a produção leiteira, pois se adapta muito bem ao sistema de produção, além de produzir leite com um bom volume de sólidos totais (Silva et al., 2023).

Isso é particularmente importante, uma vez que o número de laticínios que bonificam o produtor com base no teor de sólidos tem aumentado no país, visto que a produção de derivados do leite necessita de uma matéria-prima com altas concentrações de gordura e proteína para a sua obtenção (Roma Júnior et al., 2009; Vidal e Saran Netto, 2018; Raymundy, 2023). Esses fatores combinados fazem da raça Holandesa a escolha ideal para produtores que buscam maximizar seu ganho financeiro e garantir uma produção de leite consistente e de alta qualidade (Augusto, 2023).

De acordo com dados da Associação Brasileira dos Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (ABCBRH), as lactações das vacas adultas são padronizadas em 305 dias. As fêmeas são cobertas pela primeira vez entre os 16 e 18 meses de idade, e o primeiro parto ocorre entre os 25 e 27 meses de idade, com uma gestação média de 280 dias. O intervalo entre os partos varia

de 15 a 17 meses e a produção média de leite das vacas Holandesas varia de 4 mil a 7 mil kg por lactação (Augusto, 2023; Silva et al., 2023).

Diversos fatores fisiológicos, ambientais e sanitários podem afetar a produção, composição e qualidade do leite bovino como a raça, idade da fêmea, número de crias, dias em lactação, nutrição, sazonalidade e saúde da glândula mamária (Fonseca, 2021b).

Vacas da raça Holandesa produzem leite com cerca de 12 a 14% de sólidos totais, compostos por proteínas (2,5 a 4%), gordura (3 a 5%) e lactose (5%) (Fonseca, 2021a).

A capacidade de produção de leite está diretamente ligada à idade e à ordem de parto das fêmeas. Como resultado, as vacas primíparas, que ainda estão em fase de crescimento e desenvolvimento da glândula mamária, apresentam uma menor capacidade produtiva em comparação com as vacas múltiparas (Costella, 2021; Fonseca, 2021a). O pico de produção ocorre, aproximadamente, entre a terceira e a quarta lactação, quando então a produtividade começa a declinar (Freitas et al., 2001; Teixeira et al., 2003; Magalhães et al., 2006; Noro et al., 2006; Andrade et al., 2007).

Com relação ao estágio de lactação, as vacas apresentam uma ascensão da produção de leite que vai do parto até os 60 dias, quando geralmente ocorre o pico de produção. Passado esse período, os animais tendem a manifestar um decréscimo da produção de leite à medida que a lactação avança, culminando com a secagem do animal devido à gestação avançada ou à baixa produção (Molento et al., 2004).

Em relação à composição do leite, a gordura é o componente que apresenta a maior variação dentro de uma mesma raça e a alimentação exerce grande influência na sua concentração, uma vez que os principais precursores de gordura no leite têm relação direta com a dieta consumida pelos animais (Factori et al., 2023). Os alimentos volumosos, ricos em fibras, desempenham um papel essencial no metabolismo do rúmen, ajudando a manter o pH adequado e promovendo uma mastigação mais intensa. Além disso, contribuem para a concentração de gordura no leite (Rosa, 2019).

Por outro lado, a quantidade de proteínas é determinada geneticamente enquanto que a de lactose varia de acordo com o volume de leite produzido. As principais proteínas presentes no leite são as caseínas, a β -lactoglobulina e a

α -lactoalbumina. Essas proteínas são sintetizadas exclusivamente na glândula mamária, não sendo encontradas em outros tecidos ou fluidos biológicos, e são muito importantes do ponto de vista nutricional, fornecendo todos os aminoácidos necessários para o desenvolvimento do recém-nascido. Além disso, a concentração de proteínas no leite é de extrema importância para as indústrias de laticínios, já que está diretamente relacionada à qualidade do produto final. Outras proteínas, como imunoglobulinas, albumina e enzimas, são encontradas em menores quantidades no leite. A lactose, por sua vez, é o glicídeo predominante no leite e tem um papel essencial na regulação do seu equilíbrio osmótico, sendo um fator importante para a produção de volume (Gauche, 2007; Rodríguez Arzuaga, 2020; Fonseca, 2021b).

A variação sazonal também exerce influência sobre o desempenho, composição e qualidade do leite. Mudanças periódicas de temperatura e umidade têm um efeito direto na produção de leite pela diminuição da ingestão de matéria seca e efeito indireto pela flutuação na quantidade e qualidade do alimento (Bohmanova et al., 2007). Quando a umidade relativa e a temperatura ambiente ultrapassam a zona de conforto térmico, os animais sofrem estresse calórico devido à dificuldade de dissipação de calor e aumento da temperatura corporal (Ferreira et al., 2006). Além disso, o período chuvoso pode afetar de forma negativa a qualidade microbiológica do leite (Oliveira, 2023).

A mastite é a enfermidade que representa o maior custo na produção leiteira em todo o mundo. As perdas econômicas resultam da redução da produção de leite, descarte prematuro de animais, descarte de leite, tratamento, assistência veterinária e a diminuição da qualidade do leite (Fonseca e Santos, 2000).

Conceitualmente, a mastite é a inflamação da glândula mamária causada, principalmente, por bactérias que invadem o úbere de forma ascendente, pelo canal do teto, e que se manifesta na forma clínica (com alterações visíveis no úbere ou no leite) ou subclínica (sem sinais visíveis, o que dificulta o seu diagnóstico e a torna mais prevalente). A mastite também pode ser classificada em contagiosa ou ambiental, dependendo do modo de contágio e dos patógenos envolvidos. Os principais agentes bacterianos causadores de mastite são estafilococos, estreptococos e coliformes (Fonseca e Santos, 2000; Santos e Gonçalves, 2022).

O teste da caneca de fundo escuro serve para diagnosticar a mastite clínica e deve ser realizado diariamente, em todas as ordenhas, com os três primeiros jatos de cada teto para verificar alguma alteração no leite, como presença de grumos ou sangue e coloração alterada. Além disso, recomenda-se realizar o teste da raquete ou *California Mastitis Test* (CMT), ou a contagem de células somáticas (CCS) para o diagnóstico da mastite subclínica (Fonseca e Santos, 2000; Weis et al., 2022).

As células somáticas encontradas no leite são compostas principalmente por leucócitos do sangue e células de descamação do epitélio glandular secretor e o fator que mais contribui para aumento nos valores da CCS no leite é a mastite. A invasão da glândula mamária por microrganismos é seguida de um aumento do número de leucócitos, que migram da corrente circulatória para a glândula mamária, representando cerca de 98 a 99% das células encontradas no leite (Santos, 2002; Langoni et al., 2011; Hirota, 2021; Chamilete et al., 2022). Desse modo, a CCS do leite indica, de maneira quantitativa, o grau de infecção da glândula mamária tanto em amostras de leite de tanque quanto em amostras individuais de vacas lactantes. De acordo com a legislação brasileira, o limite de CCS para amostras de tanque é de 500.000 células/mL (BRASIL, 2018). Para amostras individuais, contagens $\geq$ 200.000 células/mL indicam ocorrência da mastite subclínica (Smith et al., 2001).

“ O CMT é usado mundialmente para o diagnóstico da mastite subclínica, tendo a vantagem de poder ser empregado no próprio rebanho, no momento em que os animais são ordenhados. A interpretação do CMT se baseia na observação visual do leite após ser misturado ao reagente (detergente aniônico neutro). A reação se processa entre o reagente e o material genético das células somáticas presentes no leite, formando um gel, cuja concentração é proporcional ao número de células somáticas. O resultado do CMT é dado como negativo, suspeito, fracamente positivo, positivo e fortemente positivo. Portanto, indiretamente, o número de leucócitos pode ser determinado pelo CMT, pois quanto maior a quantidade de células somáticas, mais forte a reação (Schalm e Noorlander 1957; Brito et al., 1997; Weis et al., 2022). A desvantagem do CMT é que ele apenas estima o conteúdo de células,

de forma subjetiva, o que exige discernimento na leitura e interpretação dos resultados (Brito et al., 2002).

A avaliação do perfil bioquímico do soro lácteo também tem sido utilizada em estudos sobre mastite, transferência de imunidade passiva e intervalos de referência em ruminantes domésticos (Alcindo et al., 2014; Baroza et al., 2019; Pizauro et al., 2014; Rocha et al., 2012; Rocha et al., 2014; Silva et al., 2013), porém ainda são escassos os trabalhos sobre a influência dos fatores fisiológicos no perfil bioquímico do soro lácteo de vacas da raça Holandesa (Pozzatti, 2014; Palhano, 2023).

Além da redução da produção de leite, que é o principal prejuízo causado pela mastite, ela também é responsável por causar alterações na sua composição, pois há uma redução na síntese e na secreção dos componentes do leite dentro da glândula mamária. As proteínas, a gordura e a lactose são os componentes mais afetados, assim como alguns minerais. Também ocorre um aumento na permeabilidade vascular, aumentando a passagem de elementos do sangue para o leite (Sanches, 2023).

Entretanto, além das alterações da composição do leite relacionadas aos fatores sanitários, também é importante conhecer melhor os fatores relacionados aos animais, uma vez que diversas propriedades organolépticas e o rendimento dos produtos lácteos na indústria variam em função da composição do leite. Ademais, a influência de fatores fisiológicos na composição do soro lácteo oriundo de glândulas mamárias consideradas saudáveis também necessita de mais estudos a fim de se estabelecer faixas de valores de normalidade para os seus componentes.

3. Referências

ABIA (2019) Associação Brasileira das Indústrias de Alimentação. **Números do Setor – Faturamento.** Disponível em: <<https://www.abia.org.br/vsn/anexos/faturamento2019.pdf>>. Acesso em: 15 jun. 2023.

Alcindo JF (2014) **Avaliação colostrar de cabras acometidas por mastite e sua influência nos níveis imunes séricos de cabritos**. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Unesp, Araçatuba.

Andrade LM, El Faro L, Cardoso VL, Albuquerque LG, Cassoli LD, Machado PF (2007) Efeitos genéticos e de ambiente sobre a produção de leite e a contagem de células somáticas em vacas Holandesas. **Revista Brasileira de Zootecnia** 36(2): 343–349. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982007000200010>.

Augusto BS (2023) **Importância da raça Holandesa na pecuária leiteira: revisão bibliográfica**. 39 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Zootecnia) - Unesp, Jaboticabal.

Baroza PFJ, Franciosi C, Silva DG, Santana AM, Fagliari JJ (2019) Perfil bioquímico e proteinograma do soro lácteo de cabras e vacas nos primeiros 30 dias após o parto. **Medicina Veterinária (UFRPE)** 13(4):498–505. <https://doi.org/10.26605/medvet-v13n4-3657>.

Bohmanova J, Misztal I, Cole JB (2007) Temperature-humidity indices as indicators of milk production losses due to heat stress. **Journal of Dairy Science** 2007 90(4):1947-56. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-513>.

BRASIL (2017) Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), Decreto nº. 9.013, de 29 de março de 2017. **Diário Oficial da União**. Brasília, Seção 1, p. 3-27.

BRASIL (2018) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018. **Diário Oficial da União**. Brasília, Seção 1, p. 9.

BRASIL (2020) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Valor Bruto da Produção Agropecuária**. Disponível em: < <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/vbp-e-estimado-em-r-689->

97-bilhoes-para-2020/202003VBPelaspeyresagropecuariapdf.pdf >. Acesso em: 15 jun. 2023.

Brito JRF, Brito MAV, Arcuri EF (2002) **Como reconhecer e controlar a mastite em rebanhos bovinos**. Juiz de Fora: EMBRAPA Gado de Leite. 8 p. (EMBRAPA Gado de Leite: Circular Técnica, 70).

Brito JRF, Caldeira GAV, Verneque RS, Brito MAVP (1997) Sensibilidade e especificidade do "California Mastitis Test" como recurso diagnóstico da mastite subclínica em relação à contagem de células somáticas. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 17(2):49–53. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X1997000200002>.

Chamilete SAM, Nassu RT, Alves TC (2022) Avaliação da composição química do leite e contagem de células somáticas de vacas das raças Holandesa e Jersolanda. In: 28º CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. **Anais...** Brasília: SBCTA/EMBRAPA, p. 1-5.

Costella GZ (2021) **Produção e composição química do leite de vacas da raça Jersey em função da categoria animal e do período de lactação**. 201. 20 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Agronomia), Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul.

Cruz SO (2021) **Saúde da glândula mamária de vacas em lactação**. 25 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Zootecnia) - Universidade Federal de Sergipe, Nossa Senhora da Glória.

Dobranić V, Njari B, Samardžija M, Mioković B, Resanović R (2008) The influence of the season on the chemical composition and the somatic cell count of bulk tank cow's milk. **Veterinarski Archive** 78(3):235-242.

Factori MA, Corrêa W, Halak FE, Oliveira LP (2023) Avaliação da produtividade e qualidade do leite de vacas Holandesas alimentadas com DBR SACCH probiótico concentrado em pó. **Pubvet** 17(4):e1374. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v17n4e1374>.

FAO (2022) Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAOSTAT - Crops and livestock products. Raw milk of cattle, 2021.** Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>>. Acesso em: 14 jul. 2023.

Feitosa FLF, Camargo DG, Yanaka R, Mendes LCN, Peiró JR, Bovino F, Lisboa JAN, Perri, SHV, Gasparelli ERF (2010) Índices de falha de transferência de imunidade passiva (FTIP) em bezerros Holandeses e Nelores, às 24 e 48 horas de vida: valores de proteína total, de gamaglobulina, de imunoglobulina G e da atividade sérica de gamaglutamiltransferase, para o diagnóstico de FTIP. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 30(8):696–704. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2010000800015>.

Ferreira DSA, Santos ALP, Cunha Filho M, Rocha LL, Batista AMV, Barbosa SBP, Moreira GR (2019) Qualidade do leite de vacas Holandesas na região Agreste de Pernambuco. **Sigmae** 8(2):509-521.

Ferreira F, Pires MFA, Martinez ML, Coelho SG, Carvalho AU, Ferreira PM, Facury Filho EJ, Campos WE (2006) Parâmetros fisiológicos de bovinos cruzados submetidos ao estresse calórico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 58(5):732–738. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352006000500005>.

Fonseca AP (2021a) **Desempenho produtivo e perfil metabólico de vacas primíparas F1 Holandês x Gir e sua relação com a reprodução.** 117 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

Fonseca LFL, Santos MV (2000) **Qualidade do leite e controle de mastite.** São Paulo: Editorial Lemos. 175 p.

Fonseca MEB (2021b) Mastite bovina: Revisão. **Pubvet** 15(2):1-18. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v15n02a743.1-18>.

Fox PF (2004) **Cheese: chemistry, physics and microbiology: major cheese groups**. v. 2. 3rd ed. New York: Academic Press. 456 p.

Freitas MS, Durães MC, Freitas AF, Barra, RB (2001) Comparação da produção de leite e de gordura e da duração da lactação entre cinco "graus de sangue" originados de cruzamentos entre Holandês e Gir em Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 53(6):708–713. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352001000600017>.

Gauche C (2007) **Polimerização de proteínas do soro de leite por transglutaminase e propriedades físicas de iogurte elaborado após tratamento enzimático**. 120 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

González FHD (2001) **Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação**. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/26682/000324366.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 04 set. 2023.

Hirota CS (2021) **Qualidade do leite bovino: revisão bibliográfica**. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Zootecnia) - Unesp, Jaboticabal.

IBGE (2022) Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa da Pecuária Municipal 2021**. Disponível em: <http://www.https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html?=&t=resultados>. Acesso em: 14 jul. 2023.

Langoni H, Penachio DS, Citadella JCC, Laurino F, Faccioli-Martins PY, Lucheis SB, Menozzi BD, Silva AV (2011) Aspectos microbiológicos e de qualidade do leite bovino. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 31(12):1059-1065. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2011001200004>.

Magalhães HR, El Faro L, Cardoso VL, Paz CCP, Cassoli LD, Machado PF (2006) Influência de fatores de ambiente sobre a contagem de células somáticas e sua relação com perdas na produção de leite de vacas da raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia** 35(2):415–421. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982006000200011>.

Molento CFM, Monardes H, Ribas NP, Block E (2004) Curvas de lactação de vacas Holandesas do Estado do Paraná, Brasil. **Ciência Rural** 34(5):1585–1591. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782004000500040>.

Noro G, González FHD, Campos R, Dürr JW (2006) Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia** 35(3):1129–1135. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982006000400026>.

Oliveira LA (2023) **Fatores que afetam a qualidade do leite**. 32 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Zootecnia), Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Rio Verde.

Oliveira MN (2009) **Tecnologia de produtos lácteos funcionais**. São Paulo: Atheneu. 404 p.

Palhano ACA (2023) **Determinação de valores de intervalos de referência para as variáveis cloretos, sódio, potássio e cálcio iônico no soro lácteo de fêmeas bovinas durante as fases de lactação**. 51 f. Dissertação (Mestrado em Produção Sustentável e Saúde Animal) – Universidade Estadual de Maringá, Umuarama.

Pizauro LJL, Silva DG, Santana AM, Morais SMA, Benincasa NC, Fagliari JJ (2014). Perfil bioquímico, inclusive proteinograma, do soro lácteo de búfalas primíparas e pluríparas sadias ao longo da lactação. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 34(Supl1): 79–86. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2014001300015>.

Pozzatti P (2014). **Perfil bioquímico, microbiológico e celular do leite de vacas Girolandas do parto aos 180 dias de lactação**. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

Raymundy AS (2023) **Remuneração do leite por qualidade: entenda os critérios avaliados**. Disponível em: <
<https://www.fundacaoroge.org.br/blog/remuneracao-do-leite-por-qualidade-entenda-os-criterios-avaliados>>. Acesso em: 14 jul. 2023.

Révillion JP, Brandelli A, Ayub MAZ (2000) Produção de extratos de leveduras de uso alimentar a partir do soro de queijo: abordagem de elementos técnicos e mercadológicos relevantes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos** 20(2): 246-249. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612000000200020>.

Ribeiro LER **Mecanismo neuro-hormonal de ejeção do leite: revisão bibliográfica**. 49 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Agrônômica) - Unesp, Jaboticabal.

Rocha DT, Carvalho GR, Resende JC (2020) **Cadeia produtiva do leite no Brasil: produção primária**. Juiz de Fora: EMBRAPA Gado de Leite. 16 p. (EMBRAPA Gado de Leite, Circular Técnica, 123).

Rocha TG, Franciosi C, Nociti RP, Silva PC, Sampaio AAM, Fagliari JJ (2014) Influence of parity on concentrations of enzymes, proteins, and minerals in the milk of cows. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 66(1):315–320. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352014000100043>.

Rocha TG, Nociti RP, Sampaio AAM, Fagliari JJ (2012) Passive immunity transfer and serum constituents of crossbred calves. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 32(6):515–522. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2012000600008>.

Rodríguez Arzuaga M, Añón MC, Abraham AG (2020) Pérdida de solubilidad de sistemas modelo de aislado de proteínas de lactosuero, caseinato de calcio,

lactosa e inulina por acción de la composición y el tratamiento térmico. **Innotec** 19:23–36. <https://doi.org/10.26461/19.06>.

Roma Júnior LC, Montoya JFG, Martins TT, Cassoli LD, Machado PF (2009) Sazonalidade do teor de proteína e outros componentes do leite e sua relação com programa de pagamento por qualidade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 61(6):1411–1418. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352009000600022>.

Rosa FD (2019) **Proporção de volumoso na dieta de vacas Holandesas e sua influência na produção e composição do leite em diferentes períodos de lactação**. 40 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Zootecnia) - Universidade Federal do Pampa, Dom Pedrito.

Sanches N (2023) **Qualidade do leite e suas análises: revisão bibliográfica**. 33 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Zootecnia) – Unesp, Jaboticabal.

Santos MV (2002) **Como caracterizar o leite anormal quanto a CCS?** Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/colunas/marco-veiga-dos-santos/diagnostico-da-mastite-inflamacao-ou-infeccao-231558/>> Acesso em: 14 jul. 2023.

Santos MV, Gonçalves JL (2022) **Entenda o diagnóstico da mastite: inflamação ou infecção?** Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/colunas/marco-veiga-dos-santos/diagnostico-da-mastite-inflamacao-ou-infeccao-231558/>> Acesso em: 14 jul. 2023.

Schalm OW, Noorlander DO (1957) Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. **Journal of the American Veterinary Medical Association** 130(5):199-204.

Silva JSC, Guaraná ELS, Lemos VF, Soares PC, Afonso JAB, Mendonça CL (2013) Metabolismo energético, proteico e mineral de ovelhas Santa Inês

hígidas e com mastite subclínica. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 33(9): 1087–1096. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2013000900007>.

Silva LR, Santos BF, Ferreira MFF (2023) A produção do leite de vacas Holandesas. **Revista de Trabalhos Acadêmicos – Universo Belo Horizonte**, 1(8):1-2.

Smith KL, Hillerton JE, Harmon RJ (2001) NMC guidelines on normal and abnormal raw milk based on SCC and signs of clinical mastitis. **National Mastitis Council**, Madison, p. 1-3. Disponível em: < <https://www.nmconline.org/wp-content/uploads/2016/09/Guidelines-on-Normal-and-Abnormal-Raw-Milk.pdf> > Acesso em: 04 set. 2023.

Teixeira NM, Freitas AF, Barra RB (2003) Influência de fatores de meio ambiente na variação mensal da composição e contagem de células somáticas do leite em rebanhos no Estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 55(4):491–499. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352003000400016>.

Vidal AMC, Saran Netto A (2018) **Obtenção e processamento de leite e derivados**. Pirassununga: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo. 220 p. <https://doi.org/10.11606/9788566404173>.

Walstra P, Jenness R (1986) **Química y física lactológica**. Acribia: Zaragoza. 423 p.

Walstra P, Wouters JTM, Geurts TJ (2005) **Dairy science and technology**. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press. 808 p.

Weis GCC, Vargas AC, Santos ACM, Balza C (2022) **Boas práticas agropecuárias na produção de leite**. 1 ed. Santa Maria: Pró-Reitoria de Extensão - UFSM. 44 p.

Zafalon LF, Nader Filho A (2007) **Características físico-químicas do leite bovino, após o tratamento da mastite subclínica causada por *Staphylococcus aureus* durante a lactação**. São Carlos: EMBRAPA Pecuária Sudeste. 24 p. (EMBRAPA Pecuária Sudeste, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 13).

Ziegler FLF, Sgarbieri VC (2009) Caracterização químico-nutricional de um isolado proteico de soro de leite, um hidrolisado de colágeno bovino e misturas dos dois produtos. **Revista de Nutrição** 22(1):61-70. <https://doi.org/10.1590/S1415-52732009000100006>.

CAPÍTULO 2 - Composição, celularidade e perfil bioquímico do leite de vacas Holandesas primíparas e pluríparas durante as fases da lactação¹

[Composition, cellularity and biochemical profile of milk from primiparous and pluriparous Holstein cows during the stages of lactation]

D. D. Alves¹, D. G. Silva¹, G. A. Aguiar¹, G. S. Nogueira¹, M. F. Silva² e J. C. Lacerda Neto¹

¹Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/UNESP), Jaboticabal, SP, Brasil

²Universidade Federal de Jataí (UFJ), Jataí, GO, Brasil

RESUMO

O objetivo do estudo foi verificar a influência da ordem de parto e do estágio da lactação na composição e na contagem de células somáticas do leite e no perfil bioquímico do soro lácteo de vacas Holandesas primíparas e pluríparas na fase inicial (primeiro ao terceiro mês de lactação), fase intermediária (quarto ao sétimo mês de lactação) e fase final da lactação (oitavo ao décimo mês de lactação). Para isso, foi feita a triagem de 236 quartos mamários de 68 fêmeas lactantes, primíparas e pluríparas, com 16 a 290 dias em lactação, sem alterações na glândula mamária, negativos no teste da caneca de fundo escuro e no *California Mastitis Test* (CMT), e coletado igual número de amostras de leite para a determinação dos teores de gordura (GORD), proteína (PROT), lactose (LACT), sólidos totais (ST) e extrato seco desengordurado (ESD), pelo método de infravermelho, e contagem de células somáticas (CCS), pelo método de citometria de fluxo, em contador automático. Somente as amostras de leite com CCS < 200.000 células/mL, de 58 fêmeas lactantes, foram selecionadas para o estudo (n=200) e alocadas em três grupos, de acordo número de lactação dos animais: amostras de leite de fêmeas de primeira lactação (G1; n=76), amostras de leite de fêmeas com duas ou três lactações (G2; n=73) e amostras de leite de fêmeas com quatro a seis lactações (G3; n=51) e em três momentos, de acordo com o estágio de lactação (fase inicial, fase intermediária e fase final). Após a obtenção do soro lácteo, foram determinadas as atividades das enzimas gamaglutamiltransferase e fosfatase alcalina e as concentrações

Artigo redigido de acordo com as normas da revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

<https://www.scielo.br/journal/abmvz/about/#instructions>

de proteína total, albumina, cálcio total, fósforo, magnésio, ferro, cloretos, sódio, potássio e cálcio ionizado. Houve influência da ordem de parto e da fase da lactação na CCS do leite das fêmeas primíparas (G1) e pluríparas (G2 e G3), enquanto que a composição do leite (GORD, PROT, LACT e ST) foi influenciada apenas pela ordem de parto. O estágio de lactação influenciou todos os parâmetros bioquímicos avaliados no soro lácteo. A ordem de parto também influenciou o perfil bioquímico do soro lácteo, exceto a concentração de ferro. Ressalta-se que a metodologia da amostragem utilizada no estudo, por quarto mamário e antes da ordenha, interferiu negativamente na mensuração dos teores de gordura do leite. O conhecimento mais detalhado das variações fisiológicas que influenciam a composição do leite pode contribuir para o estabelecimento de intervalos de valores de normalidade mais precisos e específicos para monitorar a saúde da glândula mamária.

Palavras-chave: CCS, CMT, estágio da lactação, ordem de parto, soro lácteo

ABSTRACT

The aim of the study was to verify the influence of calving order and stage of lactation on milk composition, somatic cell count and biochemical profile of whey from primiparous and multiparous Holstein cows in initial phase (first to third month of lactation), intermediate phase (fourth to seventh month of lactation), and final phase of lactation (eighth to tenth month of lactation). For this, 236 mammary quarters from 68 lactating, primiparous and pluriparous females, with 16 to 290 days in lactation, with no changes in the mammary gland, negative in strip cup test and in California Mastitis Test (CMT), were screened and an equal number of milk samples were collected to determine fat (FAT), protein (PROT), lactose (LACT), total solids (TS) and defatted dry extract (DDE) contents, by infrared method, and somatic cell count (SCC), by flow cytometry, in automatic counter. Only milk samples with $SCC < 200,000$ cells/mL, from 58 lactating females, were selected for the study ($n=200$) and allocated into three groups, according to number of lactations of animals: milk samples from females with one lactation (G1; $n=76$), milk samples from females with two or three lactations (G2; $n=73$) and milk samples from females with four to six lactations (G3; $n=51$) and at three moments, according with the lactation stage (initial phase, intermediate phase and final phase). After obtaining the whey, gamma-glutamyltransferase and alkaline phosphatase activities, and total protein, albumin, total calcium, phosphorus, magnesium, iron,

chlorides, sodium, potassium and ionized calcium concentrations were determined. There was an influence of calving order and lactation stage on SCC of milk samples from primiparous (G1) and pluriparous (G2 and G3) females, while milk composition (FAT, PROT, LACT and ST) was influenced only by order of calving. The lactation stage influenced all biochemical parameters evaluated in whey. Calving order also influenced biochemical profile of whey, except the iron concentration. It is noteworthy that sampling methodology used in the study, per mammary quarter and before milking, had a negative impact on measurement of milk fat content. More detailed knowledge of the physiological variations that influence milk composition can contribute to the establishment of more accurate and specific ranges of normal values to monitor the health of mammary gland.

Keywords: SCC, CMT, stage of lactation, calving order, whey

INTRODUÇÃO

A cadeia produtiva do leite é uma das principais atividades econômicas do país, com forte efeito na geração de emprego e renda. O Brasil é o quarto maior produtor mundial de leite (36 bilhões de litros/ano), com destaque para os estados de MG, PR, RS, SC, GO e SP, ficando atrás apenas dos Estados Unidos da América, Índia e China (Rocha *et al.*, 2020; FAO, 2022; IBGE, 2022).

A glândula mamária dos bovinos é composta por quatro quartos mamários distintos e a sua ejeção para fora do úbere é um processo complexo e dependente de um mecanismo neuro-hormonal (Reece, 2008; Dias *et al.*, 2020). Do ponto de vista fisiológico, o leite é um fluido biológico obtido da secreção das glândulas mamárias das fêmeas mamíferas com a finalidade de alimentar suas crias (Vidal e Saran Netto, 2018). Legalmente, o leite é definido como o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2017). Já do ponto de vista físico-químico, o leite é uma solução aquosa na qual estão dispersas partículas coloidais de caseína, glóbulos de gordura, lactose, proteínas solúveis em água, sais minerais e vitaminas (Fox e McSweeney, 1998; Fonseca e Santos, 2000).

Atualmente, a qualidade do leite é o fator mais importante na seleção de animais para a produção leiteira. Além da qualidade microbiológica do leite e da contagem de

células somáticas (CCS), o volume de sólidos totais, representado principalmente pelos teores de gordura e proteínas, e a quantidade produzida por lactação também são levados em consideração (Vidal e Saran Netto, 2018; Fonseca, 2021b). Nesse contexto, a raça Holandesa de pelagem preta e branca se destaca por sua alta produção, qualidade e facilidade de manejo (Silva *et al.*, 2023).

O leite bovino geralmente é composto por 87% de água e 13% de sólidos totais (ou extrato seco total) e um dos fatores que exerce maior efeito sobre a produção, composição e qualidade do leite é a mastite (Fonseca e Santos, 2000; Fox, 2009). Contudo, fatores fisiológicos e ambientais, como a raça, idade da fêmea, número de crias, dias em lactação, nutrição e sazonalidade, também podem afetar a composição do leite bovino e devem ser levados em consideração (González, 2001; Fonseca, 2021b).

Com o presente estudo, espera-se compreender melhor a influência dos fatores fisiológicos (ordem de parto e estágio da lactação) na composição do leite de vacas sem alterações no exame físico da glândula mamária e cujo leite manteve-se negativo ao teste da caneca de fundo escuro e CMT e com CCS < 200.000 células/mL.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas amostras de leite de vacas lactantes pertencentes a uma propriedade leiteira localizada no município de Taiaçu, estado de São Paulo. O rebanho era composto por cerca de 440 animais da raça Holandesa, com 232 vacas em lactação, criadas em regime intensivo e ordenhadas mecanicamente três vezes ao dia, produzindo, em média, 28 kg leite/vaca/dia. A sala de ordenha era do tipo lado a lado com linha de vácuo alta. Antes da ordenha era realizada a desinfecção dos tetos por imersão em solução pré-dipping (Prevent Pré Dipping, Revtec Bioquímica, Vargem Grande do Sul, SP) e secagem com papel toalha descartável. Após a ordenha era feita a imersão dos tetos em solução pós-dipping (Atomic Pós Dipping, Revtec Bioquímica, Vargem Grande do Sul, SP). As vacas recebiam dieta à base de concentrado, silagem de milho, silagem de milheto, grão úmido, cevada e caroço de algodão, de acordo com as recomendações da NASEM (2021).

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal (Protocolo nº 7758/23).

Antes da primeira ordenha matinal, e num único dia, foi feita a triagem de 236 quartos mamários, de 68 fêmeas, primíparas e multíparas, com 16 a 290 dias em lactação, sem alterações no exame físico da glândula mamária (Feitosa, 2020) e negativos no teste da caneca de fundo escuro e no *California Mastitis Test* (CMT).

Após a antissepsia dos tetos com algodão embebido em álcool 70%, foram coletadas, por meio de ordenha manual, amostras de 30 mL de leite em frascos plásticos estéreis contendo conservante bromonata, para a contagem de células somáticas (CCS) e avaliação da composição do leite, e amostras de 20 mL de leite em frascos plásticos estéreis sem conservante, para avaliação do perfil bioquímico. Todas as amostras foram acondicionadas e transportadas em caixas isotérmicas com gelo até o laboratório.

A contagem de células somáticas foi realizada pelo método de citometria de fluxo em contador automático (Somacount 300, Bentley Instruments Incorporated, Minnesotta, USA) e a avaliação dos teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e extrato seco desengordurado do leite, pelo método de infravermelho no Laboratório de Fisiologia da Lactação “Lair Antônio de Souza” (LAFLA), Clínica do Leite, Departamento de Produção Animal, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP, Piracicaba-SP.

Das 236 amostras de leite coletadas, 36 amostras apresentaram $CCS \geq 200.000$ células/mL e foram excluídas do estudo.

Assim, as 200 amostras selecionadas, oriundas de 58 fêmeas lactantes, foram alocadas em três grupos, de acordo número de lactação dos animais: amostras de leite de fêmeas de primeira lactação (G1; n=76), amostras de leite de fêmeas com duas ou três lactações (G2; n=73) e amostras de leite de fêmeas com quatro a seis lactações (G3; n=51) e em três momentos, de acordo com o estágio de lactação: amostras de leite coletadas na fase inicial (primeiro ao terceiro mês de lactação), amostras de leite coletadas na fase intermediária (quarto ao sétimo mês de lactação) e amostras de leite coletadas na fase final da lactação (oitavo ao décimo mês de lactação).

O soro lácteo foi obtido após coagulação do leite pela adição de renina (Coalho Estrella, Chr. Hansen Brasil Ind. e Com. Ltda, Valinhos, São Paulo, Brasil), utilizando a técnica recomendada por Sant’Ana e Birgel (2003). Após a adição de renina as amostras foram colocadas em banho-maria a 37°C durante 20 minutos e em seguida foram centrifugadas durante 20 minutos a 4.500 x g.

Para avaliação do perfil bioquímico do soro lácteo foram determinadas as atividades das enzimas gamaglutamiltransferase (método de Szasz modificado) e

fosfatase alcalina (método de Bowers e McComb modificado), bem como as concentrações de proteína total (método do biureto), albumina (método do verde de bromocresol), cálcio total (método de CPC - cresoltaleína), fósforo (método de Daly e Ertinghausen modificado), magnésio (método de Magon sulfonado), cloretos (método de tiocianato de mercúrio), e ferro (método de Goodwin modificado), utilizando-se conjunto de reagentes comerciais (Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, MG, Brasil). As leituras das amostras foram realizadas em espectrofotômetro semiautomático (Labquest, Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, MG, Brasil), com luz de comprimento de onda apropriado para cada teste. Adicionalmente foram determinados os teores de sódio, potássio e cálcio ionizado pelo método seletivo de íons em analisador automático (9180 Electrolyte Analyzer, Roche, Mannheim, Germany).

Os dados obtidos, expressos na forma de média e desvio padrão, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de Tukey para comparação entre pares de médias, ao nível de 5% de significância, após a verificação da homogeneidade das amostras.

RESULTADOS

Os resultados da composição e da CCS do leite das vacas primíparas e pluríparas na fase inicial (primeiro ao terceiro mês de lactação), fase intermediária (quarto ao sétimo mês de lactação) e fase final da lactação (oitavo ao décimo mês de lactação) são apresentados na Tabela 1 e nas Figuras 1 a 6.

Em relação à composição do leite, não foram observadas variações significativas nos teores de gordura (GORD), proteína (PROT), lactose (LACT), sólidos totais (ST) e extrato seco desengordurado (ESD) nas diferentes fases de lactação em nenhum dos três grupos experimentais ($p > 0,05$) (Tabela 1 e Figuras 1 a 5), porém foram verificadas diferenças significativas entre as vacas primíparas (G1) e vacas múltíparas (G2 e G3), em pelo menos uma fase da lactação, sendo verificados maiores teores GORD, PROT e ST no G1 ($p < 0,05$) (Tabela 1 e Figuras 1, 2, e 4) e maiores teores de LAC no G2 e G3 ($p < 0,05$) (Tabela 1 e Figura 3). Não foram notadas diferenças significativas nos teores de ESD entre os grupos avaliados ($p > 0,05$) (Tabela 1 e Figura 5).

Por outro lado, constatou-se variações significativas da CCS entre os três grupos experimentais ao longo da lactação, com maiores contagens no grupo das vacas

primíparas (G1), e redução significativa da CCS ao longo da lactação em todos os grupos avaliados ($p < 0,05$) (Tabela 1 e Figura 6)

Tabela 1. Média $\pm$ desvio padrão da composição do leite e da contagem de células somáticas de vacas Holandesas com uma lactação (G1), com duas ou três lactações (G2) e com quatro a seis lactações (G3) durante a fase inicial, intermediária e final da lactação.

Variáveis / Grupos	Fases da Lactação		
	Inicial	Intermediária	Final
GOR (g/100g)			
G1	1,63 $\pm$ 0,60 ^{Aa}	1,56 $\pm$ 0,68 ^{Aa}	1,33 $\pm$ 0,49 ^{Aa}
G2	1,16 $\pm$ 0,44 ^{Ba}	1,29 $\pm$ 0,63 ^{ABa}	1,06 $\pm$ 0,37 ^{Aa}
G3	1,05 $\pm$ 0,31 ^{Ba}	0,89 $\pm$ 0,22 ^{Ba}	1,07 $\pm$ 0,39 ^{Aa}
PROT (g/100g)			
G1	3,37 $\pm$ 0,29 ^{Aa}	3,38 $\pm$ 0,32 ^{Aa}	3,45 $\pm$ 0,32 ^{Aa}
G2	3,24 $\pm$ 0,34 ^{ABa}	3,34 $\pm$ 0,38 ^{Aa}	3,25 $\pm$ 0,20 ^{Aa}
G3	3,13 $\pm$ 0,25 ^{Ba}	3,30 $\pm$ 0,32 ^{Aa}	3,26 $\pm$ 0,17 ^{Aa}
LACT (g/100g)			
G1	4,62 $\pm$ 0,35 ^{Aa}	4,55 $\pm$ 0,93 ^{Aa}	4,76 $\pm$ 0,19 ^{Aa}
G2	4,86 $\pm$ 0,19 ^{Ba}	4,93 $\pm$ 0,14 ^{Ba}	4,87 $\pm$ 0,13 ^{ABa}
G3	4,93 $\pm$ 0,12 ^{Ba}	4,94 $\pm$ 0,16 ^{ABa}	5,00 $\pm$ 0,09 ^{Ba}
ST (g/100g)			
G1	10,58 $\pm$ 0,70 ^{Aa}	10,69 $\pm$ 0,81 ^{Aa}	10,53 $\pm$ 0,74 ^{Aa}
G2	10,25 $\pm$ 0,60 ^{ABa}	10,53 $\pm$ 0,87 ^{ABa}	10,16 $\pm$ 0,52 ^{Aa}
G3	10,06 $\pm$ 0,56 ^{Ba}	10,06 $\pm$ 0,55 ^{Ba}	10,29 $\pm$ 0,45 ^{Aa}
ESD (g/100g)			
G1	8,96 $\pm$ 0,47 ^{Aa}	9,13 $\pm$ 0,40 ^{Aa}	9,19 $\pm$ 0,40 ^{Aa}
G2	9,09 $\pm$ 0,41 ^{Aa}	9,24 $\pm$ 0,41 ^{Aa}	9,10 $\pm$ 0,32 ^{Aa}
G3	9,02 $\pm$ 0,35 ^{Aa}	9,17 $\pm$ 0,43 ^{Aa}	9,22 $\pm$ 0,32 ^{Aa}
CCS (céls/mL)			
G1	138.265 $\pm$ 28.208 ^{Aa}	77.263 $\pm$ 8.523 ^{Ab}	41.783 $\pm$ 9.606 ^{Ac}
G2	26.348 $\pm$ 2.058 ^{Ba}	18.788 $\pm$ 2.655 ^{Bb}	13.353 $\pm$ 1.498 ^{Bc}
G3	9.143 $\pm$ 854 ^{Ca}	7.444 $\pm$ 511 ^{Cb}	5.083 $\pm$ 996 ^{Cc}

GOR: teor de gordura; PROT: teor de proteína; LACT: teor de lactose; ST: teor de sólidos totais; ESD: extrato seco desengordurado; CCS: contagem de células somáticas.

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma coluna e letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

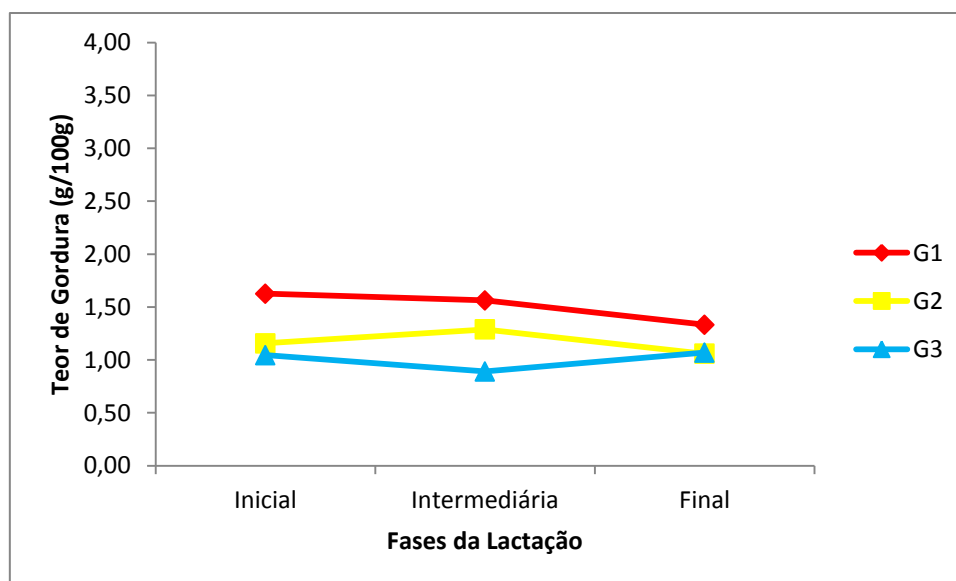


Figura 1. Variação do teor de gordura (g/100g) no leite de vacas Holandesas com uma lactação (G1), com duas ou três lactações (G2) e com quatro a seis lactações (G3) durante a fase inicial, intermediária e final da lactação.

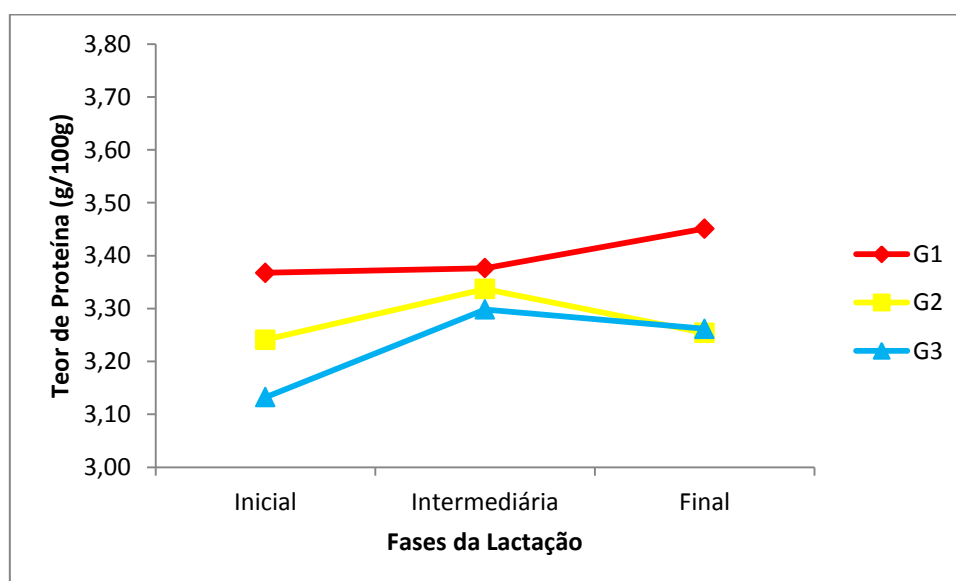


Figura 2. Variação do teor de proteína (g/100g) no leite de vacas Holandesas com uma lactação (G1), com duas ou três lactações (G2) e com quatro a seis lactações (G3) durante a fase inicial, intermediária e final da lactação.

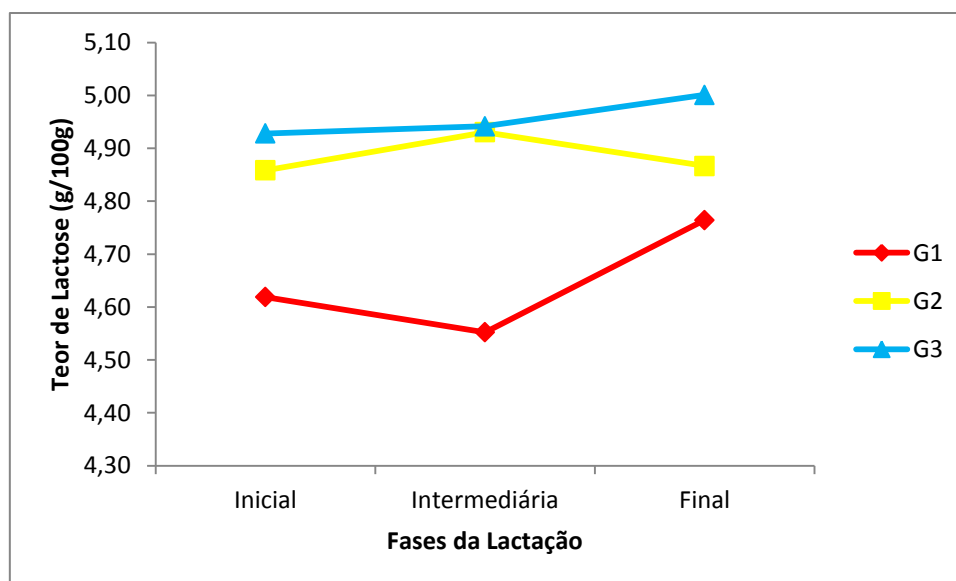


Figura 3. Variação do teor de lactose (g/100g) no leite de vacas Holandesas com uma lactação (G1), com duas ou três lactações (G2) e com quatro a seis lactações (G3) durante a fase inicial, intermediária e final da lactação.

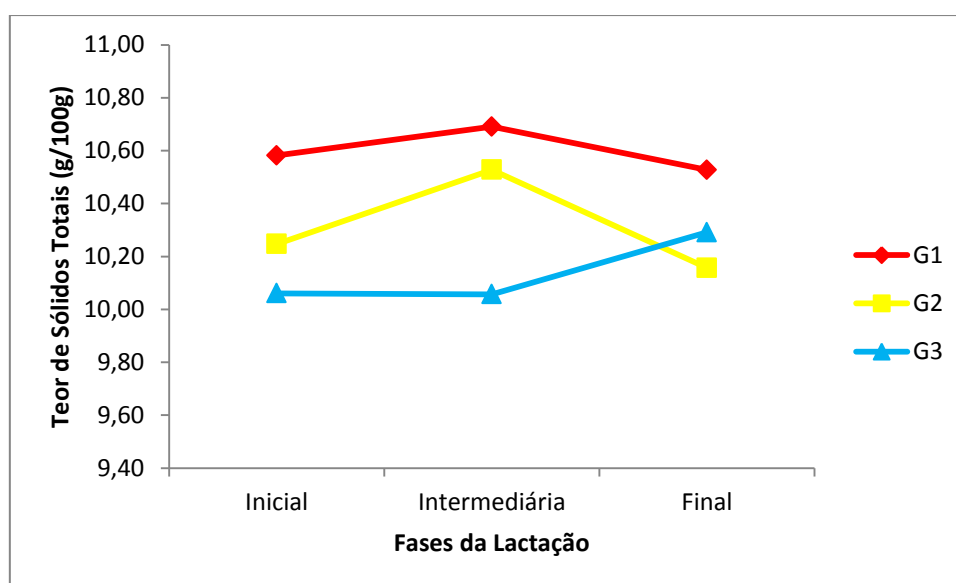


Figura 4. Variação do teor de sólidos totais (g/100g) no leite de vacas Holandesas com uma lactação (G1), com duas ou três lactações (G2) e com quatro a seis lactações (G3) durante a fase inicial, intermediária e final da lactação.

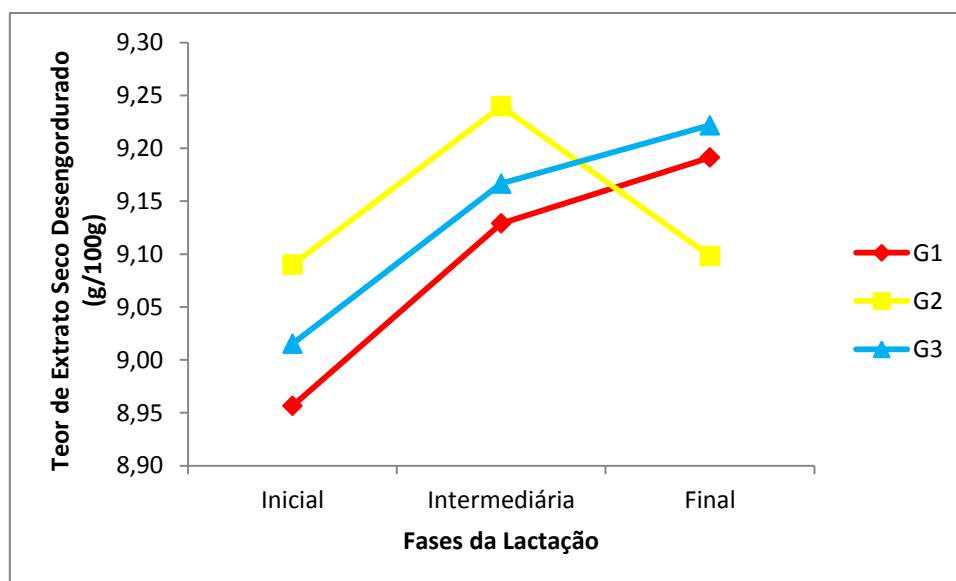


Figura 5. Variação do teor de extrato seco desengordurado (g/100g) no leite de vacas Holandesas com uma lactação (G1), com duas ou três lactações (G2) e com quatro a seis lactações (G3) durante a fase inicial, intermediária e final da lactação.

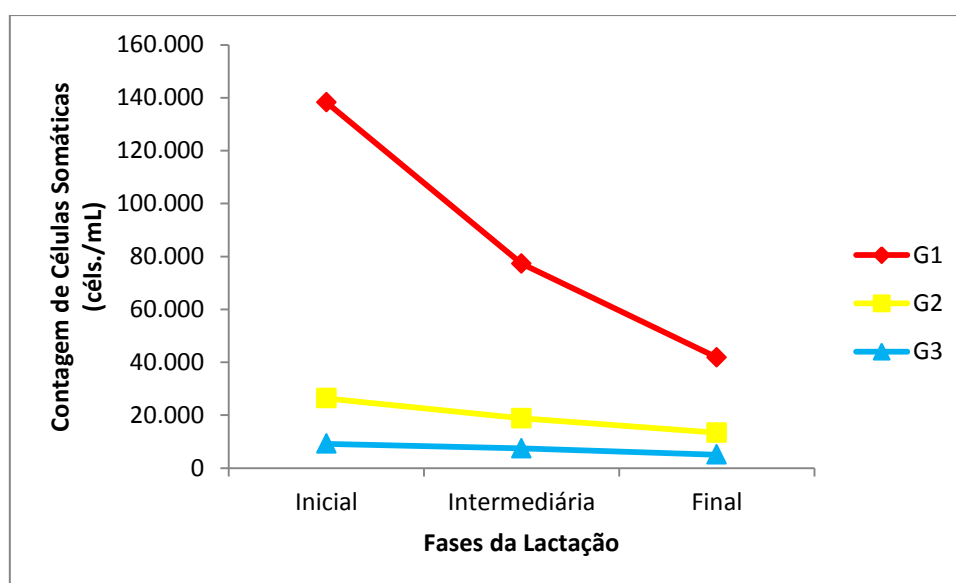


Figura 6. Variação da contagem de células somáticas (células/mL) no leite de vacas Holandesas com uma lactação (G1), com duas ou três lactações (G2) e com quatro a seis lactações (G3) durante a fase inicial, intermediária e final da lactação.

A avaliação da composição, CCS e da contagem bacteriana total (CBT) do leite do tanque da propriedade avaliada é apresentada na Tabela 2. Estes resultados são referentes à análise mensal da propriedade, realizada no mesmo mês da coleta das

amostras de leite para o presente estudo. Todos os parâmetros avaliados no leite do tanque da propriedade estavam dentro dos valores de normalidade e/ou em conformidade com as exigências da legislação brasileira.

Tabela 2. Composição, contagem de células somáticas (CCS), contagem bacteriana total (CBT) do leite do tanque da propriedade leiteira localizada no município de Taiaçu-SP.

Componentes	Amostra do tanque da propriedade	Composição média do leite (mín-máx)	Instrução Normativa nº76
GORD (g/100g)	3,57	4,0 (2,5-5,5)	mín. 3,0
PROT (g/100g)	3,29	3,3 (2,3-4,4)	mín. 2,9
LACT (g/100g)	4,63	4,6 (3,8-5,3)	mín. 4,3
ST (g/100g)	12,40	12,9 (11,3-14,7)	mín. 11,4
ESD (g/100g)	8,81	8,9 (7,9-10,0)	mín. 8,4
CCS (células/mL)	313.000	-	500.000
CBT (UFC/mL)	6.000	-	300.000

MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; GOR: teor de gordura; PROT: teor de proteína; LACT: teor de lactose; ST: teor de sólidos totais; ESD: extrato seco desengordurado.

Fonte: adaptado de Walstra *et al.* (2005) e BRASIL (2018).

A produção média diária de leite das 58 fêmeas, cujas amostras foram selecionadas para o estudo, é apresentada na Tabela 3 e Figura 7. Observou-se maior produção diária de leite nas vacas multíparas com maior número de lactações, porém sem diferenças significativas em relação à produção das fêmeas com menor número de lactações ($p>0,05$).

Tabela 3. Produção média diária de leite (kg) das vacas Holandesas primíparas e multíparas (n=58) da propriedade leiteira localizada no município de Taiaçu-SP.

Categoria	Produção média diária de leite (kg)
primíparas (n=20)	$27,56 \pm 7,94^A$
multíparas com 2 ou 3 lactações (n=21)	$30,24 \pm 11,33^A$
multíparas com 4 a 6 lactações (n=17)	$34,36 \pm 7,42^A$

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

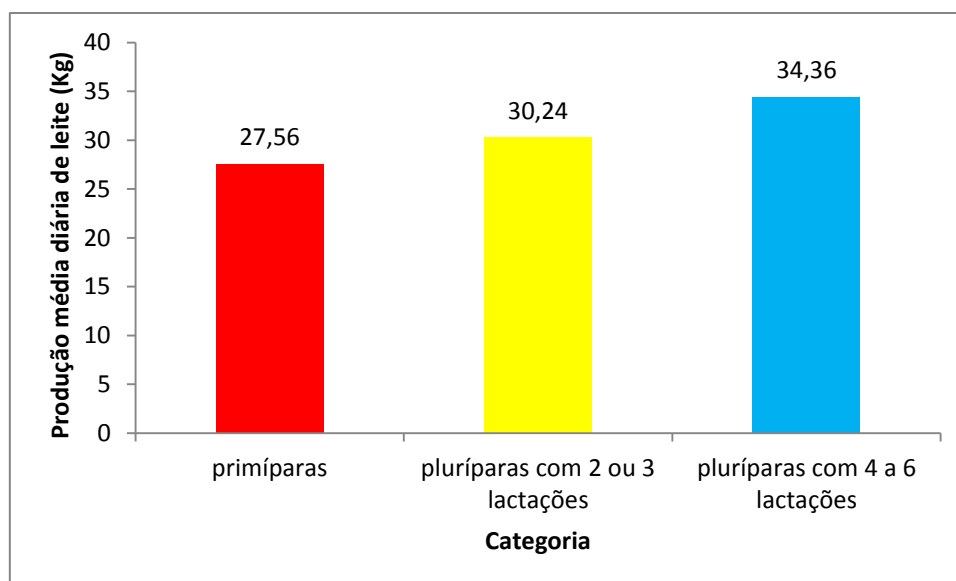


Figura 7. Representação gráfica da produção média diária de leite (kg) das vacas Holandesas primíparas e pluríparas da propriedade leiteira localizada no município de Taiaçu-SP.

Os resultados do perfil bioquímico do soro lácteo das vacas primíparas e pluríparas na fase inicial (primeiro ao terceiro mês de lactação), fase intermediária (quarto ao sétimo mês de lactação) e fase final da lactação (oitavo ao décimo mês de lactação) são apresentados na Tabela 4 e nas Figuras 8 a 19.

Foram observadas variações significativas em todos os parâmetros bioquímicos avaliados nas diferentes fases de lactação em pelo menos um dos grupos experimentais ($p < 0,05$) (Tabela 4 e Figuras 8 a 19). Também foram verificadas diferenças significativas em relação à ordem de parto, exceto na concentração de ferro (Tabela 4 e Figura 16).

Em relação à atividade da GGT, notou-se aumento significativo no soro lácteo de todas as fêmeas do início para o final da lactação e atividades significativamente maiores no grupo das múltiparas (G2: 3.804 U/L e G3: 3.570 U/L) na fase final da lactação ($p < 0,05$) (Tabela 4 e Figura 8). Também foi observado aumento significativo da atividade enzimática da FA ao longo das fases da lactação ($p < 0,05$) e valores significativamente menores da atividade desta enzima no soro lácteo das fêmeas múltiparas do G2 no início da lactação (28,12 U/L) (Tabela 4 e Figura 9).

Ademais, houve aumento significativo da concentração de proteínas totais da fase inicial para a fase final da lactação no soro lácteo de todos os animais ($p < 0,05$), sendo verificadas menores concentrações no G3 no início da lactação (1,06 g/dL) e

maiores valores no G2 no final da lactação (1,48 g/dL) (Tabela 4 e Figura 10). Comportamento semelhante foi notado para a concentração de albumina ao longo da lactação, porém o aumento só foi significativo ($p < 0,05$) no soro lácteo do G2 que também apresentou o maior valor para essa proteína no final da lactação (0,08 g/dL) (Tabela 4 e Figura 11).

Em relação aos teores de minerais do soro lácteo, observou-se redução significativa da concentração de cálcio total no soro lácteo das primíparas (G1) no decorrer da lactação ($p < 0,05$). O menor valor deste elemento foi verificado no soro lácteo do G2 na fase final da lactação (30,88 mg/dL) (Tabela 4 e Figura 12).

Por outro lado, observou-se aumento significativo da concentração de magnésio no soro lácteo do G1 da fase inicial para a fase final da lactação ($p < 0,05$), sendo que as vacas pluríparas do G2 apresentaram as menores concentrações desse mineral na fase intermediária (6,62 mg/dL) e na fase final da lactação (6,86 mg/dL) (Tabela 4 e Figura 13).

As fêmeas primíparas (G1) apresentaram concentrações de fósforo significativamente maiores ($p < 0,05$) no soro lácteo em todas as fases da lactação em comparação com as fêmeas pluríparas (G2 e G3). Com relação ao estágio da lactação, aumento significativo foi verificado no soro lácteo do G1 entre a fase inicial e intermediária e redução significativa no G3 entre a fase intermediária e final ($p < 0,05$) (Tabela 4 e Figura 14).

Apesar de não terem sido notadas diferenças significativas da concentração de ferro nas amostras do soro lácteo das fêmeas primíparas (G1) e múltíparas (G2 e G3) ($p > 0,05$), constatou-se aumento significativo da concentração desse elemento no soro lácteo do G3 entre a fase intermediária e a fase final da lactação, quando observou-se o maior valor de teor de ferro (6,02 μ g/dL) (Tabela 4 e Figura 15).

Em relação às concentrações de eletrólitos do soro lácteo, verificou-se aumento significativo de cloretos no soro lácteo das fêmeas múltíparas do G2 e G3 do início para o final da lactação ($p < 0,05$), sendo constatados os maiores nesses dois grupos no final da lactação (G2: 122 mMol/L e G3: 125 mMol/L) (Tabela 4 e Figura 16).

Houve aumento significativo da concentração de sódio no soro lácteo das fêmeas primíparas (G1) da fase inicial para a fase intermediária da lactação e no soro lácteo das fêmeas pluríparas do G3 da fase intermediária para a fase final ($p < 0,05$). Valores significativamente mais elevados desse eletrólito foram verificados no G3 na fase intermediária (147 mMol/L) e final (157 mMol/L) da lactação (Tabela 4 e Figura 17).

Notou-se teores significativamente maiores de potássio no soro lácteo das fêmeas do G1 em todas as fases da lactação em comparação com as fêmeas pluríparas (G2 e G3). Com relação às fases da lactação, foram observados aumentos significativos ($p<0,05$) desse eletrólito no soro lácteo do G1 entre a fase inicial e intermediária e reduções significativas no soro lácteo do G2 e G3 entre a fase inicial e final da lactação ($p<0,05$) (Tabela 4 e Figura 18).

Houve diminuição significativa da concentração de cálcio ionizado no soro lácteo das fêmeas primíparas do G1 e das fêmeas múltiparas do G2 da fase inicial para a fase final da lactação ($p<0,05$). Em relação à ordem de parto, foram verificados maiores teores desse eletrólito no soro lácteo do G1 na fase inicial da lactação (3,35 mMol/L) e no soro lácteo do G3 na fase intermediária (3,20 mMol/L) e final (3,06 mMol/L) da lactação (Tabela 4 e Figura 19).

Tabela 4. Média $\pm$ desvio padrão dos parâmetros bioquímico do soro lácteo de vacas Holandesas com uma lactação (G1), com duas ou três lactações (G2) e com quatro a seis lactações (G3) durante a fase inicial, intermediária e final da lactação.

Parâmetros / Grupos	Fases da Lactação		
	Inicial	Intermediária	Final
GGT (U/L)			
G1	2.592 $\pm$ 313 ^{Aa}	3.237 $\pm$ 432 ^{ABb}	2.881 $\pm$ 521 ^{Ac}
G2	2.711 $\pm$ 534 ^{Aa}	2.970 $\pm$ 471 ^{Aa}	3.804 $\pm$ 738 ^{Bb}
G3	2.558 $\pm$ 298 ^{Aa}	3.400 $\pm$ 881 ^{Bb}	3.570 $\pm$ 809 ^{Bb}
FA (U/L)			
G1	51,95 $\pm$ 27,34 ^{Aa}	102 $\pm$ 37,18 ^{Ab}	147 $\pm$ 74,69 ^{Ac}
G2	28,12 $\pm$ 11,66 ^{Ba}	90,97 $\pm$ 40,49 ^{Ab}	150 $\pm$ 33,85 ^{Ac}
G3	53,29 $\pm$ 19,37 ^{Aa}	83,84 $\pm$ 47,58 ^{Aa}	144 $\pm$ 94,18 ^{Ab}
PT (g/dL)			
G1	1,13 $\pm$ 0,09 ^{ABa}	1,13 $\pm$ 0,06 ^{Aa}	1,24 $\pm$ 0,07 ^{Ab}
G2	1,16 $\pm$ 0,13 ^{Aa}	1,20 $\pm$ 0,10 ^{Ba}	1,48 $\pm$ 0,20 ^{Bb}
G3	1,06 $\pm$ 0,08 ^{Ba}	1,23 $\pm$ 0,07 ^{Bb}	1,34 $\pm$ 0,18 ^{ABc}
Alb (mg/dL)			
G1	0,05 $\pm$ 0,02 ^{Aa}	0,05 $\pm$ 0,01 ^{Aa}	0,06 $\pm$ 0,01 ^{Aa}
G2	0,05 $\pm$ 0,01 ^{Aa}	0,06 $\pm$ 0,01 ^{Ba}	0,08 $\pm$ 0,02 ^{Bb}
G3	0,06 $\pm$ 0,01 ^{Aa}	0,05 $\pm$ 0,01 ^{ABa}	0,06 $\pm$ 0,03 ^{ABa}
Cat (mg/dL)			
G1	39,14 $\pm$ 4,64 ^{Aa}	31,78 $\pm$ 3,18 ^{Ab}	34,73 $\pm$ 3,95 ^{Ab}
G2	32,59 $\pm$ 5,01 ^{Ba}	32,72 $\pm$ 2,40 ^{Aa}	30,88 $\pm$ 5,00 ^{Ba}
G3	37,26 $\pm$ 3,53 ^{Aa}	36,67 $\pm$ 3,65 ^{Ba}	37,61 $\pm$ 4,85 ^{Aa}
Mg (mg/dL)			
G1	7,04 $\pm$ 1,04 ^{Aa}	6,86 $\pm$ 1,07 ^{Aa}	7,77 $\pm$ 1,25 ^{Ab}
G2	7,03 $\pm$ 1,00 ^{Aa}	6,62 $\pm$ 0,60 ^{Aa}	6,86 $\pm$ 0,91 ^{Ba}
G3	7,35 $\pm$ 1,11 ^{Aa}	7,74 $\pm$ 0,78 ^{Ba}	8,00 $\pm$ 0,76 ^{Aa}
P (mg/dL)			
G1	41,12 $\pm$ 5,00 ^{Aa}	44,87 $\pm$ 2,42 ^{Ab}	41,32 $\pm$ 3,15 ^{Aa}
G2	36,33 $\pm$ 2,99 ^{Ba}	35,71 $\pm$ 3,21 ^{Ba}	36,30 $\pm$ 4,90 ^{Ba}
G3	36,89 $\pm$ 5,22 ^{Bab}	37,23 $\pm$ 4,70 ^{Ba}	32,18 $\pm$ 6,62 ^{Bb}
Fe (ug/dL)			
G1	3,17 $\pm$ 2,42 ^{Aa}	1,97 $\pm$ 2,81 ^{Aa}	3,50 $\pm$ 2,75 ^{Aa}
G2	3,86 $\pm$ 2,10 ^{Aab}	3,54 $\pm$ 2,70 ^{Aa}	6,02 $\pm$ 3,68 ^{Ab}
G3	3,78 $\pm$ 2,81 ^{Aa}	3,63 $\pm$ 2,71 ^{Aa}	5,98 $\pm$ 3,60 ^{Aa}
Cl (mMol/L)			
G1	116 $\pm$ 9,34 ^{Aa}	116 $\pm$ 5,30 ^{Aa}	111 $\pm$ 9,40 ^{Aa}
G2	114 $\pm$ 9,33 ^{Aa}	116 $\pm$ 8,44 ^{Aab}	122 $\pm$ 10,41 ^{Bb}
G3	112 $\pm$ 8,36 ^{Aa}	111 $\pm$ 12,45 ^{Aa}	125 $\pm$ 13,43 ^{Bb}
Na (mMol/L)			
G1	139 $\pm$ 5,52 ^{Aa}	144 $\pm$ 4,74 ^{ABb}	137 $\pm$ 9,17 ^{Aa}
G2	144 $\pm$ 10,05 ^{Ba}	140 $\pm$ 10,31 ^{Aa}	140 $\pm$ 18,71 ^{Aa}
G3	132 $\pm$ 5,65 ^{Ca}	147 $\pm$ 7,90 ^{Bb}	157 $\pm$ 24,02 ^{Bb}
K (mMol/L)			
G1	40,74 $\pm$ 2,59 ^{Aa}	42,65 $\pm$ 0,97 ^{Ab}	41,61 $\pm$ 2,35 ^{Aab}
G2	39,47 $\pm$ 3,21 ^{ABa}	39,20 $\pm$ 2,51 ^{Ba}	32,72 $\pm$ 4,22 ^{Bb}
G3	37,73 $\pm$ 1,98 ^{Ba}	36,45 $\pm$ 4,02 ^{Cab}	33,33 $\pm$ 7,25 ^{Bb}
Cai (mMol/L)			
G1	3,35 $\pm$ 0,28 ^{Aa}	2,64 $\pm$ 0,21 ^{Ab}	2,73 $\pm$ 0,24 ^{Ab}
G2	3,19 $\pm$ 0,28 ^{ABa}	2,80 $\pm$ 0,25 ^{Ab}	2,52 $\pm$ 0,48 ^{Ac}
G3	3,06 $\pm$ 0,22 ^{Ba}	3,10 $\pm$ 0,29 ^{Ba}	3,06 $\pm$ 0,55 ^{Ba}

GGT: gamaglutamiltransferase; FA: fosfatase alcalina; PT: proteína total; Alb: albumina; Cat: cálcio total; P: fósforo; Mg: magnésio; Cl: cloretos; Fe: ferro; Na: sódio; K: potássio; Cai: cálcio ionizado. Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma coluna e letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

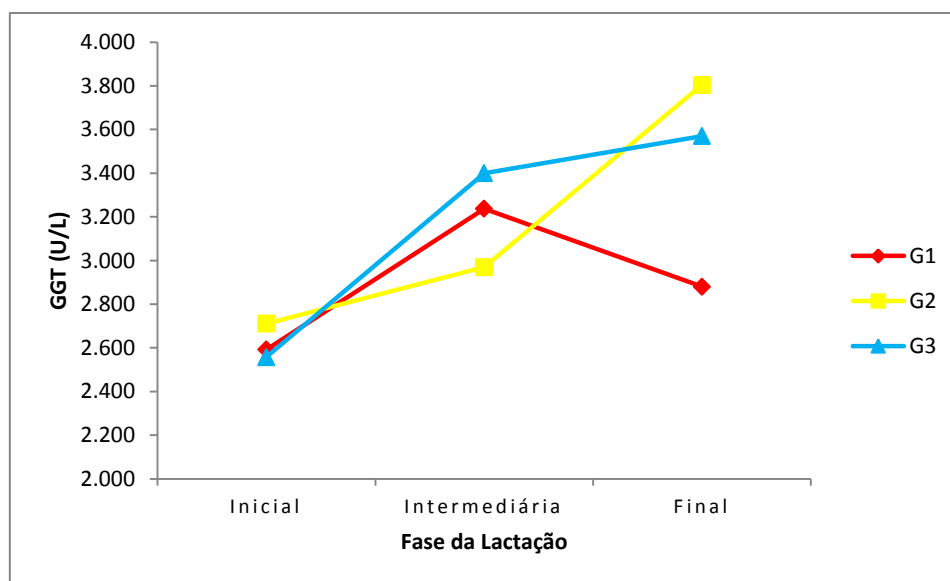


Figura 8. Variação da atividade da enzima gamaglutamiltransferase – GGT (U/L) no soro lácteo de vacas Holandesas com uma lactação (G1), com duas ou três lactações (G2) e com quatro a seis lactações (G3) durante a fase inicial, intermediária e final da lactação.

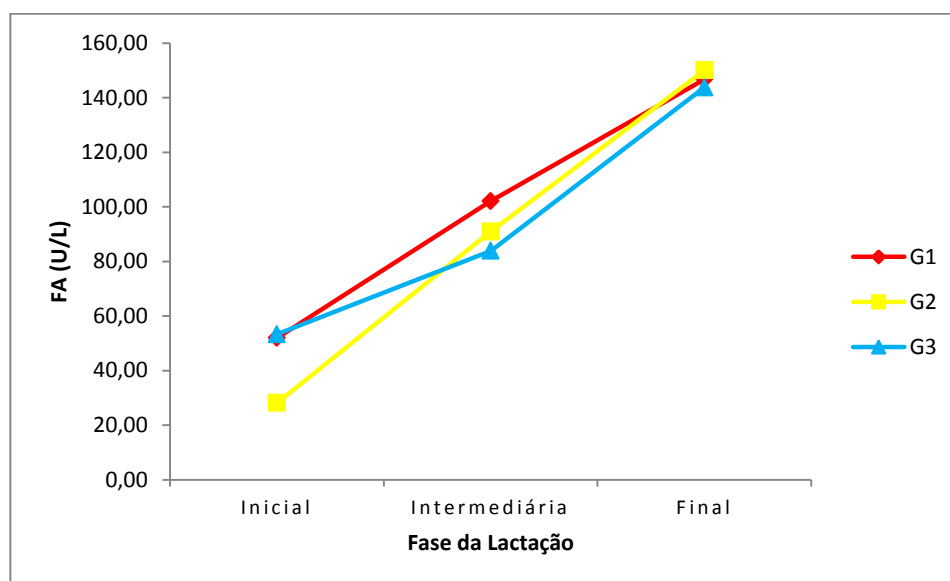


Figura 9. Variação da atividade da enzima fosfatase alcalina – FA (U/L) no soro lácteo de vacas Holandesas com uma lactação (G1), com duas ou três lactações (G2) e com quatro a seis lactações (G3) durante a fase inicial, intermediária e final da lactação.

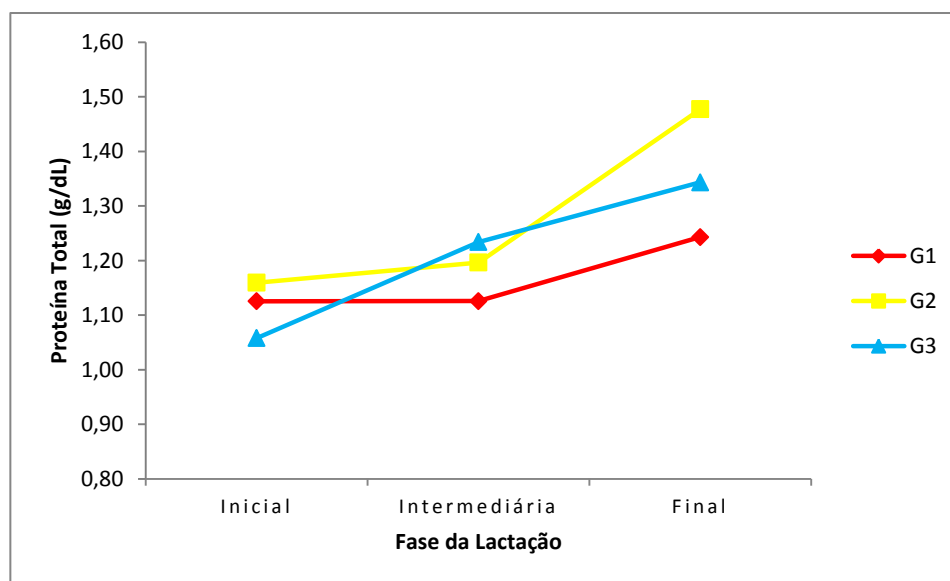


Figura 10. Variação da concentração de proteína total (g/dL) no soro lácteo de vacas Holandesas com uma lactação (G1), com duas ou três lactações (G2) e com quatro a seis lactações (G3) durante a fase inicial, intermediária e final da lactação.

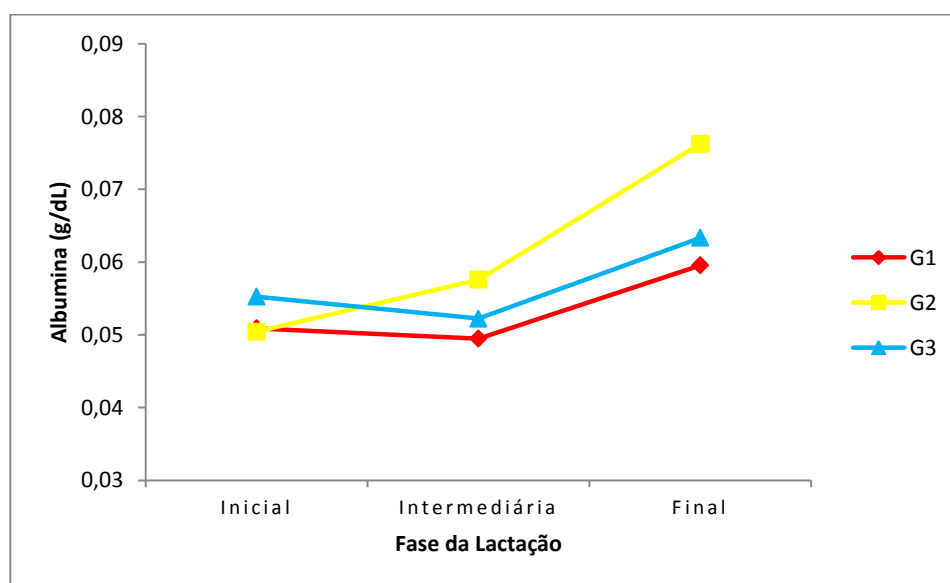


Figura 11. Variação da concentração de albumina (g/dL) no soro lácteo de vacas Holandesas com uma lactação (G1), com duas ou três lactações (G2) e com quatro a seis lactações (G3) durante a fase inicial, intermediária e final da lactação.

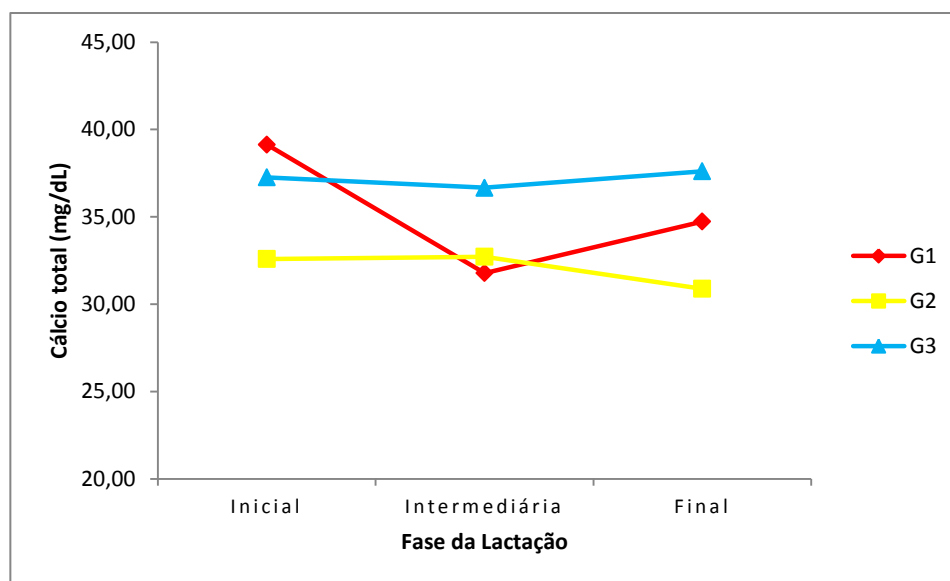


Figura 12. Variação da concentração de cálcio total (mg/dL) no soro lácteo de vacas Holandesas com uma lactação (G1), com duas ou três lactações (G2) e com quatro a seis lactações (G3) durante a fase inicial, intermediária e final da lactação.

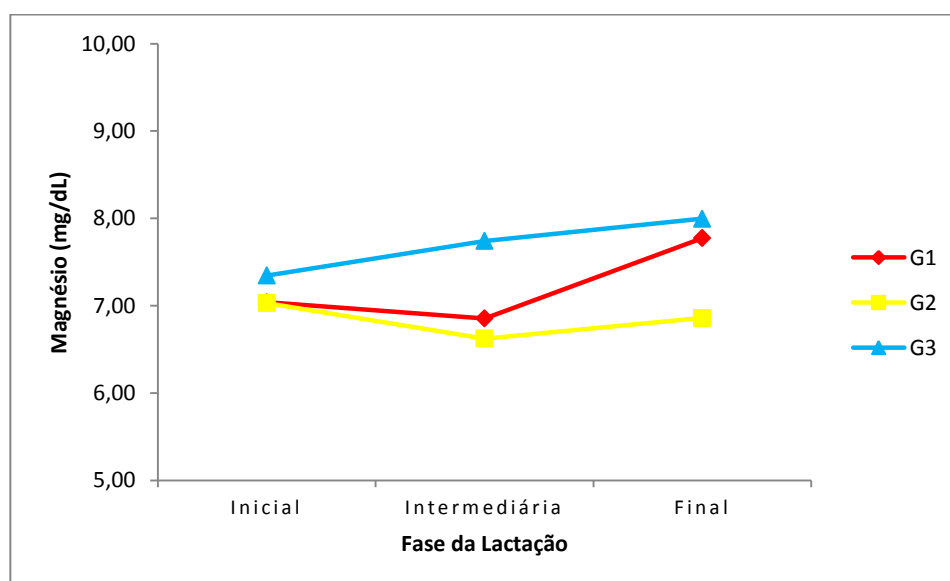


Figura 13. Variação da concentração de magnésio (mg/dL) no soro lácteo de vacas Holandesas com uma lactação (G1), com duas ou três lactações (G2) e com quatro a seis lactações (G3) durante a fase inicial, intermediária e final da lactação.

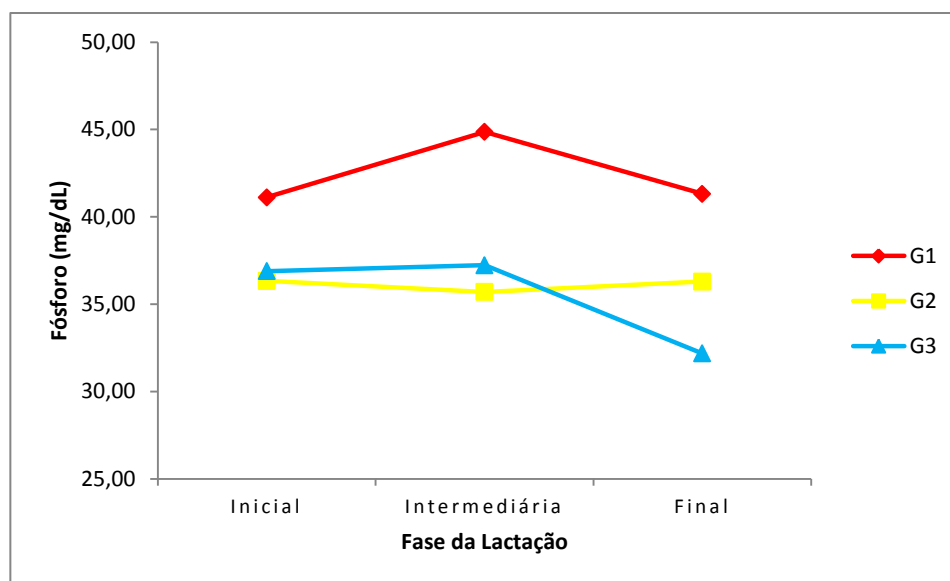


Figura 14. Variação da concentração de fósforo (mg/dL) no soro lácteo de vacas Holandesas com uma lactação (G1), com duas ou três lactações (G2) e com quatro a seis lactações (G3) durante a fase inicial, intermediária e final da lactação.

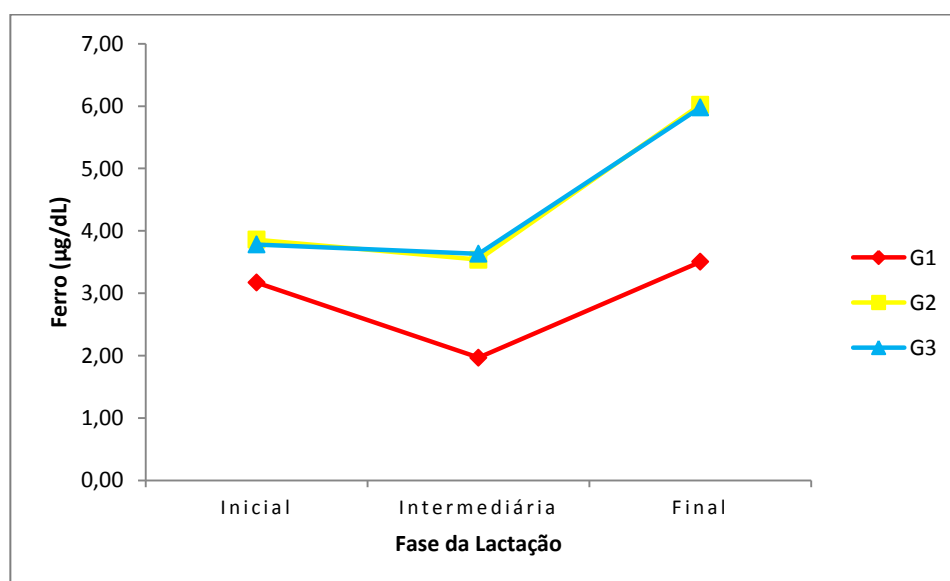


Figura 15. Variação da concentração de ferro (ug/dL) no soro lácteo de vacas Holandesas com uma lactação (G1), com duas ou três lactações (G2) e com quatro a seis lactações (G3) durante a fase inicial, intermediária e final da lactação.

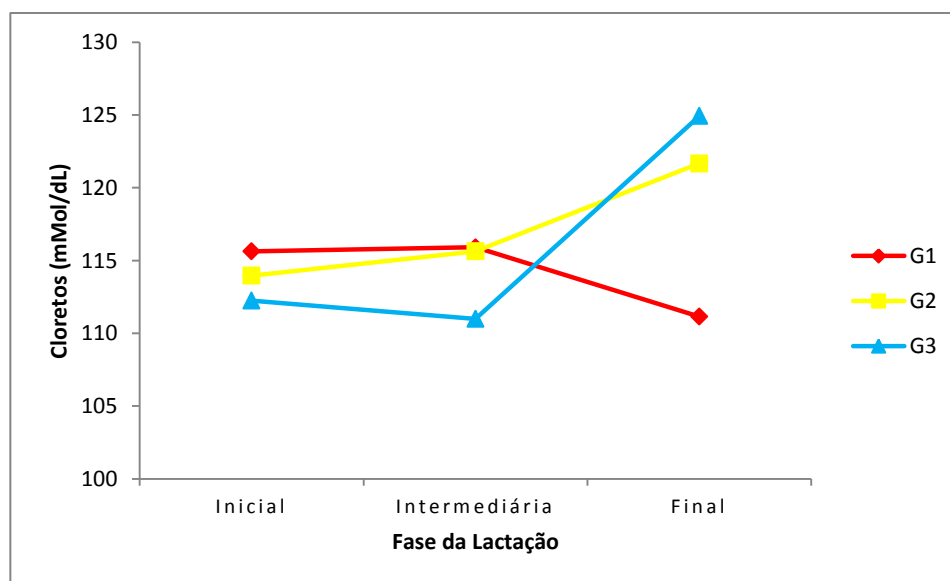


Figura 16. Variação da concentração de cloretos (mMol/L) no soro lácteo de vacas Holandesas com uma lactação (G1), com duas ou três lactações (G2) e com quatro a seis lactações (G3) durante a fase inicial, intermediária e final da lactação.

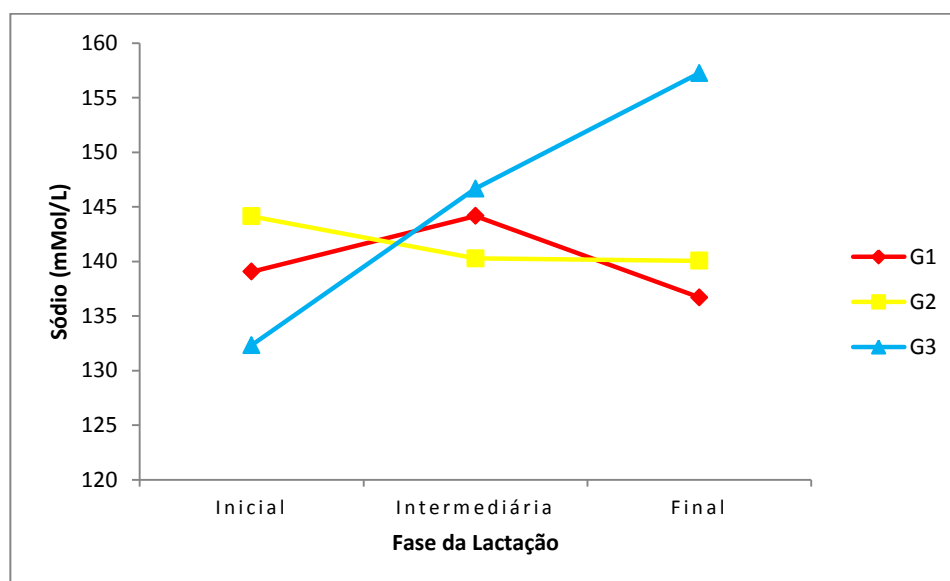


Figura 17. Variação da concentração de sódio (mMol/L) no soro lácteo de vacas Holandesas com uma lactação (G1), com duas ou três lactações (G2) e com quatro a seis lactações (G3) durante a fase inicial, intermediária e final da lactação.

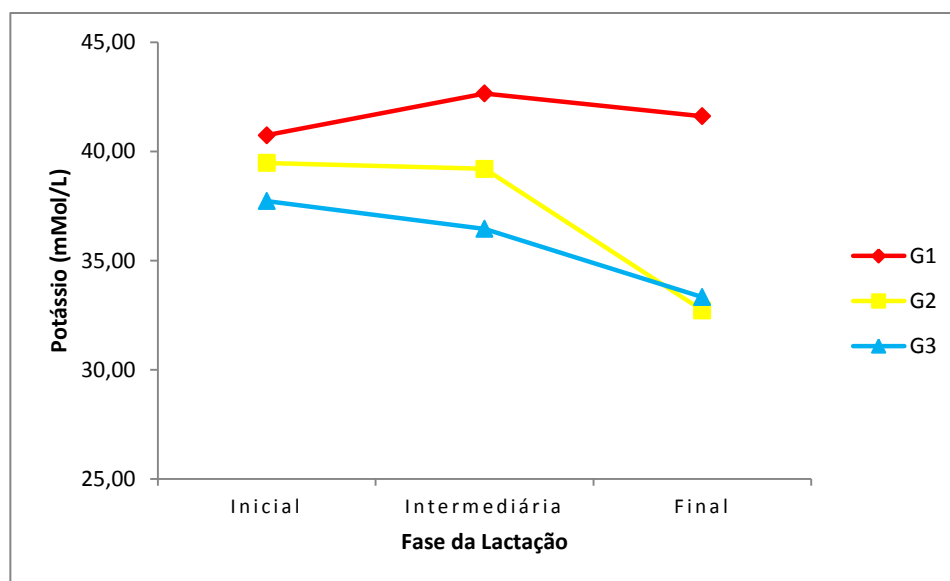


Figura 18. Variação da concentração de potássio (mMol/L) no soro lácteo de vacas Holandesas com uma lactação (G1), com duas ou três lactações (G2) e com quatro a seis lactações (G3) durante a fase inicial, intermediária e final da lactação.

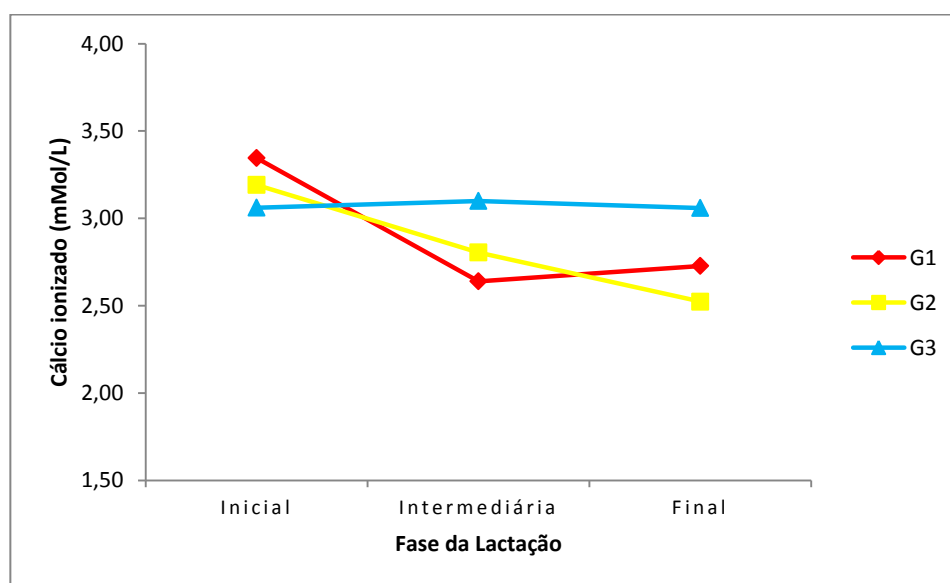


Figura 19. Variação da concentração de cálcio ionizado (mMol/L) no soro lácteo de vacas Holandesas com uma lactação (G1), com duas ou três lactações (G2) e com quatro a seis lactações (G3) durante a fase inicial, intermediária e final da lactação.

DISCUSSÃO

Além das alterações da composição do leite relacionadas aos fatores sanitários, também é importante conhecer melhor os fatores relacionados aos animais, uma vez que

diversas propriedades organolépticas e o rendimento dos produtos lácteos na indústria variam em função da composição do leite.

O leite bovino é composto principalmente por água (87%) e sólidos totais, que incluem gordura (3-4%), proteína (3,5%), lactose (5%) e minerais (1,2%) (Walstra *et al.*, 2005; Souza *et al.*, 2021) e a sua composição varia de acordo com fatores como raça, idade, saúde da glândula mamária, estágio de lactação, manejo nutricional e estações do ano (Dobranić *et al.*, 2008).

Não constatou-se influência das fases de lactação (inicial, intermediária e final) em nenhum dos componentes do leite das vacas primíparas (G1) e múltiparas (G2 e G3), apesar do relato de menores concentrações de gordura e proteínas no leite no início da lactação, seguido de aumento após a segunda metade da lactação, e diminuição dos teores de lactose ao longo da lactação (Fox e McSweeney, 1998).

Por outro lado houve influência do número de lactações nos constituintes do leite, sendo encontrados maiores teores de gordura, proteína e sólidos totais nas fêmeas bovinas com uma lactação (G1). Como as vacas primíparas têm uma produção de leite menor do que as vacas com mais partos, já que ainda estão em desenvolvimento corporal e mamário (Fonseca, 2021a), pode ser que houve uma concentração desses componentes no leite dessa categoria animal.

Já as vacas múltiparas (G2 e G3) apresentaram maiores teores de lactose. A lactose é o principal carboidrato do leite e o componente majoritário dos sólidos lácteos e, em termos tecnológicos, assim como a gordura, a proteína do leite é um dos principais constituintes de maior relevância econômica, servindo, inclusive, de critério para o pagamento do leite por qualidade aos produtores rurais pelos laticínios. Isso se deve ao fato da proteína ser de extrema importância na produção de derivados lácteos, principalmente em função da qualidade e rendimento (Vidal e Saran Netto; 2018; Souza *et al.*, 2021).

Em relação à legislação vigente, os teores de gordura e de ESD das vacas primíparas (G1) e pluríparas (G2 e G3) ficaram abaixo dos valores mínimos estabelecidos pela IN nº76 (BRASIL, 2018). A gordura do leite é um dos principais componentes em termos de valorização, sabor e nutrição e também aquele mais sujeito a variações (Fonseca e Santos, 2000; Souza *et al.*, 2021). O leite bovino normalmente contém 3,5% de gordura, mas o nível varia muito, dependendo de vários fatores, entre eles o ponto durante a ordenha quando a amostra é coletada, sendo menor no início da

ordenha e aumentando gradualmente em percentagem conforme o leite é retirado da glândula (Fox e McSwenney, 1998; González, 2001).

Assim, os valores obtidos, abaixo dos valores do tanque da propriedade estudada (GORD: 3,57 g/100g e ESD: 8,81 g/100g) provavelmente estão relacionados ao momento e à forma da coleta da amostra de leite: antes do início da ordenha e de apenas um quarto mamário, para atender aos critérios estabelecidos pelo estudo (amostra de leite negativa no teste da caneca de fundo escuro e CMT), e não de uma amostra representativa de toda ordenha retirada do medidor/amostrador.

As células somáticas encontradas no leite são compostas principalmente por células de descamação epitelial e por leucócitos do sangue e o fator que mais contribui para aumento nos valores da CCS é a mastite. Assim, a CCS é um indicador importante da saúde da glândula mamária da vaca leiteira e contagens acima de 200.000 células/mL indicam ocorrência da mastite subclínica (Smith *et al.*, 2001; Santos, 2002; Langoni *et al.*, 2011; Chamilete *et al.*, 2022). A CCS do leite também é influenciada pela produtividade da vaca, número de partos, estágio de lactação e raça do animal (Fonseca e Santos, 2000; Alhussien e Dang, 2018).

Diversos estudos indicam maiores contagens de CCS nas fêmeas multíparas em comparação com fêmeas primíparas e aumento da CCS ao longo da lactação à medida que há diminuição da produção leiteira (Batra, 1986; Breen *et al.*, 2009; Fox, 2009; Sebastino *et al.*, 2020), porém, no presente estudo, as maiores CCS foram observadas nas fêmeas primíparas e em todos os grupos houve diminuição da CCS ao longo da lactação.

O período de transição é um momento crítico para a vaca leiteira e isso é agravado em novilhas, pois a condição de primípara é uma novidade para o animal, causando intensos níveis de estresse (Collet, 2018). Ademais, a rotina diária de ordenha expõe o animal aos riscos de transmissão de patógenos contagiosos, e o vácuo da ordenha tem impacto adverso nas extremidades dos tetos (Fonseca e Santos, 2000; Fox, 2009), o que pode ter influenciado a CCS do leite das vacas primíparas do estudo.

Já a diminuição da CCS do leite das vacas primíparas (G1) e multíparas (G2 e G3) ao longo da lactação pode estar relacionadas às boas práticas de manejo da propriedade leiteira visto que a CCS e a CBT do tanque da propriedade (313.000 células/mL e 6.000 UFC/mL) estão abaixo dos valores estabelecidos pela legislação vigente (BRASIL, 2018) e ao fato das fêmeas lactantes já estarem mais adaptadas à rotina da ordenha com o decorrer dos dias em lactação.

O estágio de lactação influenciou todos os parâmetros bioquímicos avaliados no soro lácteo, com tendência de aumento da atividade das enzimas GGT e FA e das concentrações de cálcio total, fósforo, sódio, potássio e cálcio ionizado, e diminuição das concentrações de proteína total, albumina, magnésio, ferro e cloretos, com o avanço da fase de lactação. A ordem de parto também influenciou o perfil bioquímico do soro lácteo, exceto a concentração de ferro. O soro lácteo das fêmeas primíparas do G1 apresentou maior concentração de Mg. O soro lácteo das fêmeas pluríparas do G2 exibiu maior atividade das enzimas GGT e FA e maiores teores de proteína total, albumina e ferro enquanto que o soro lácteo das fêmeas pluríparas do G3 apresentou maior concentração de cloretos.

Embora a infecção da glândula mamária seja o fator mais importante que ocasiona alterações na composição do leite, devido às alterações relacionadas ao processo inflamatório, como o aumento da permeabilidade dos capilares sanguíneos e alteração dos sistemas de bombeamento iônico (Zafalon e Nader Filho, 2007; Vidal e Saran Netto; 2018), o conhecimento mais detalhado das variações fisiológicas pode contribuir para o estabelecimento de intervalos de valores de normalidade mais precisos e específicos para monitorar a saúde da glândula mamária.

CONCLUSÕES

Houve influência da ordem de parto e da fase da lactação na CCS do leite e no perfil bioquímico do soro lácteo de vacas Holandesas primíparas e pluríparas, enquanto que a composição do leite foi influenciada apenas pela ordem de parto. Ressalta-se que a metodologia da amostragem utilizada no estudo, por quarto mamário e antes da ordenha, influenciou negativamente os resultados dos teores de gordura do leite.

REFERÊNCIAS

ALHUSSIEN, M.N.; DANG, A.K. Milk somatic cells, factors influencing their release, future prospects, and practical utility in dairy animals: An overview. **Veterinary World**, v.11, n.5, p.562-577, 2018. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.562-577>.

BATRA, T.R. Comparison of two mathematical models in fitting lactation curves for pureline and crossline dairy cows. **Canadian Journal of Animal Science**, v.66, n.2, p.405-414, 1986.

BRASIL. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), Decreto n.º 9.013, de 29 de março de 2017. **Diário Oficial da União**. Brasília, Seção 1, p.3-27, 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018. **Diário Oficial da União**. Brasília, Seção 1, p.9, 2018.

BREEN, J.E.; BRADLEY, A.J.; GREEN, M.J. Quarter and cow risk factors associated with a somatic cell count greater than 199,000 cells per milliliter in United Kingdom dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.92, n.7, p.3106-15, 2009. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1562>.

CHAMILETE, S.A.M; NASSU, R.T.; ALVES, T.C. **Avaliação da composição química do leite e contagem de células somáticas de vacas das raças Holandesa e Jersolanda**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 28., 2022, Brasília. **Anais...** Brasília: SBCTA/EMBRAPA, 2022.

COLLET, S.G. **Efeito do uso de minerais traços e vitaminas A e E na saúde de vacas Holandesas no período de transição**. 2018. 70 f. Tese de Doutorado (Medicina Veterinária), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2018.

DIAS, J.A.; BELOTTI, V.; OLIVEIRA, A.M. Ordenha e boas práticas de produção. In: SALMAN, A.K.D.; PFEIFER, L.F.M. (Eds.). **Pecuária leiteira na Amazônia**. Brasília: EMBRAPA-Rondônia, 2020. cap.6, p.105-130.

DOBRANIĆ, V.; NJARI, B.; SAMARDŽIJA, M.; MIOKOVIĆ, B.; RESANOVIĆ, R. The influence of the season on the chemical composition and the somatic cell count of bulk tank cow's milk. **Veterinarski Archive**, v.78, n.3, p.235-242, 2008.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAOSTAT - Crops and livestock products. Raw milk of cattle, 2021.** 2022. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>>. Acesso em: 14 jul. 2023.

FEITOSA, F.L.F. **Semiologia Veterinária: A arte do diagnóstico.** 4 ed. São Paulo: Roca, 2020. 704p.

FONSECA, A.P. **Desempenho produtivo e perfil metabólico de vacas primíparas F1 Holandês x Gir e sua relação com a reprodução.** 117 f. 2021a. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2021a.

FONSECA, M.E.B. Mastite bovina: Revisão. **Pubvet**, v.15, n.2, p.1-18, 2021b. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v15n02a743.1-18>.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle de mastite.** São Paulo: Editorial Lemos, 2000. 175p.

FOX, P.F.; MCSWEENEY, P.L.H. **Dairy Chemistry and Biochemistry.** London: Blackie Academic & Professional, 1998. 478p.

FOX, L.K. Prevalence, incidence and risk factors of heifer mastitis. **Veterinary Microbiology**, v.134, n.1-2, p.82-88, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.005>.

GONZÁLEZ, F.H.D. **Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação.** 2001. Disponível em: <<https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/26682/000324366.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 04 set. 2023.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa da Pecuária Municipal 2021.** 2022. Disponível em: <<http://www.https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html?=&t=resultados>>. Acesso em: 14 jul. 2023.

LANGONI, H.; PENACHIO, D.S.; CITADELLA, J.C.C.; LAURINO, F.; FACCIOLI-MARTINS, P.Y.; LUCHEIS, S.B.; MENOZZI, B.D.; SILVA A.V. Aspectos microbiológicos e de qualidade do leite bovino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.31, n.12, p.1059-1065, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2011001200004>.

NASEM. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 8th rev. ed. Washington, D.C.: The National Academy Press, 2021. 380p.

ROCHA, D. T.; CARVALHO, G. R.; RESENDE, J. C. **Cadeia produtiva do leite no Brasil: produção primária**. Juiz de Fora: EMBRAPA, 2020. 16p. (Circular Técnica, 123).

REECE, W.O. **Anatomia funcional e fisiologia dos animais domésticos**. 3. ed. São Paulo: Roca, 2008. 468p.

SANT'ANA, V.A.C.; BIRGEL, E.H. Obtenção de soro lácteo para fracionamento das proteínas por eletroforese em gel de poliacrilamida. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 5., CONGRESSO LATINOAMERICANO DE BUIATRIA, 11., CONGRESSO NORDESTINO DE BUIATRIA, 3., 2003, Salvador. **Anais...** Salvador: Associação Brasileira de Buiatria, 2003. p.31.

SANTOS, M. V. **Como caracterizar o leite anormal quanto a CCS?** 2002. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/colunas/marco-veiga-dos-santos/diagnostico-da-mastite-inflamacao-ou-infeccao-231558/>> Acesso em: 14 jul. 2023.

SEBASTINO, K. B.; URIBE, H.; GONZÁLEZ, H. H. Effect of test year, parity number and days in milk on somatic cell count in dairy cows of Los Ríos region in Chile. **Austral Journal of Veterinary Sciences**, v.52, n.1, p.1-7, 2020. <https://doi.org/10.4067/S0719-81322020000100102>.

SMITH, K.L.; HILLERTON, J.E; HARMON, R.J. NMC guidelines on normal and abnormal raw milk based on SCC and signs of clinical mastitis. **National Mastitis**

Council, Madison, p.1-3, 2001. Disponível em: < <https://www.nmconline.org/wp-content/uploads/2016/09/Guidelines-on-Normal-and-Abnormal-Raw-Milk.pdf>> Acesso em: 04 set. 2023.

SILVA, L.R.; SANTOS, B.F.; FERREIRA, M.F.F. A produção do leite de vacas Holandesas. **Revista de Trabalhos Acadêmicos – Universo Belo Horizonte**, v.1, n.8, p.1-2, 2023.

SOUZA, L.B.; PACHECO, A.F.C.; VIEIRA, E.N.R.; LEITE JÚNIOR, B.R.C. **Composição do leite de vaca**. 2021. Disponível em: < <https://www.milkpoint.com.br/colunas/lipaufv/composicao-e-particularidades-dos-componentes-do-leite-225189/>> Acesso em: 14 jul. 2023.

VIDAL, A.M.C.; SARAN NETTO, A. **Obtenção e processamento de leite e derivados**. Pirassununga: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, 2018. 220p. <https://doi.org/10.11606/9788566404173>.

WALSTRA, P; WOUTERS, J. T. M.; GEURTS, T. J. **Dairy science and technology**. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2005. 808p.

ZAFALON, L.F.; NADER FILHO, A. **Características físico-químicas do leite bovino, após o tratamento da mastite subclínica causada por *Staphylococcus aureus* durante a lactação**. São Carlos: EMBRAPA Pecuária Sudeste, 2007. 24p. (EMBRAPA Pecuária Sudeste, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 13).