



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS

**COMPOSIÇÃO E PROCESSAMENTO DO
LEITE DE VACAS F1 (HOLÂNDES X
ZEBU) ALIMENTADAS COM NÍVEIS
CRESCENTES DE UREIA**

VANICE MENDES DE SOUZA

2014

VANICE MENDES DE SOUZA

**COMPOSIÇÃO E PROCESSAMENTO DO LEITE DE VACAS F1
(HOLÂNDES X ZEBU) ALIMENTADAS COM NÍVEIS
CRESCENTES DE UREIA**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Montes Claros como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração Produção Animal, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador:

Prof. Dr. Vicente Ribeiro Rocha Júnior

**UNIMONTES
MINAS GERAIS - BRASIL
2014**

S729c

Souza, Vanice Mendes de.

Composição e processamento do leite de vacas F1 (Holandês X Zebu) alimentadas com níveis crescentes de uréia [manuscrito] / Vanice Mendes de Souza. – 2014.

73 p.

Dissertação (mestrado)-Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Montes Claros-Janaúba, 2014.

Orientador: Prof^o. DSc. Vicente Ribeiro Rocha Júnior.

1. Leite. 2. Vacas leiteiras. 3. Ureia. I. Rocha Júnior, Vicente Ribeiro. II. Universidade Estadual de Montes Claros. III. Título.

CDD. 636.2142

VANICE MENDES DE SOUZA

**COMPOSIÇÃO E PROCESSAMENTO DO LEITE DE VACAS F1
(HOLÂNDES X ZEBU) ALIMENTADAS COM NÍVEIS
CRESCENTES DE UREIA**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Montes Claros como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração Produção Animal, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 14 de MARÇO de 2014.

Prof. Dr. Vicente Ribeiro Rocha Júnior - UNIMONTES

Prof. Dr. José Reinaldo Mendes Ruas - UNIMONTES

Profª. Dra. Maria Dulcinéia da Costa - UNIMONTES

Profª. Dra. Anna Christina de Almeida - UFMG

Prof. Dr. Vicente Ribeiro Rocha Júnior

UNIMONTES

(Orientador)

UNIMONTES

MINAS GERAIS - BRASIL

Aos meus pais, Airton e Darcy, pela luta e amor incondicional e a todos que estiveram comigo e torceram por mim.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A *Deus*, por sempre guiar os meus passos e por ter me proporcionado sabedoria e capacidade para realização de mais uma conquista.

Aos meus *Pais e Irmãos* que me deram forças, incondicionalmente.

Ao *Prof. Dr. Vicente Ribeiro Rocha Júnior*, pela orientação, compreensão, ajuda e exemplo de profissionalismo, com quem tive o privilégio de trabalhar para realização do presente trabalho.

À professora *M. Sc. Luciana Albuquerque Caldeira Rocha*, grande colaboradora deste trabalho.

Ao *Prof. Dr. Sidnei Tavares dos Reis*, pela ajuda e presteza com as análises estatísticas.

A *Ana Paula, Criszoel, Aline, Raquel, Flávio, Flor, Lorrane, Leidiane, Mariely, Alana, Vinícios*, pela disponibilidade e ajuda nas análises e processamentos, sendo única e insubstituível a contribuição de cada um.

Aos funcionários da *Fazenda experimental* da Unimontes.

Ao *Laboratório de Nutrição e Crescimento* (ESALQ/USP), pela disponibilidade nas análises de cromatografia.

Aos *provadores*, que pacientemente se dispuseram a realizar as análises sensoriais.

Aos *colegas de mestrado*, pelo apoio, amizade e bons momentos de descontração.

Aos *professores* do Programa de Pós-Graduação, pelos ensinamentos.

Aos Professores *Dra. Anna Chiristina de Almeida, Dra. Maria Dulcinéia da Costa e Dr. José Reinaldo Mendes Ruas* que gentilmente aceitaram participar e colaborar com este trabalho fazendo parte da banca.

À *FAPEMIG*, pelo auxílio financeiro ao projeto.

À *CAPES e ao CNPQ*, pela concessão de bolsa de estudo.

A todos aqueles que contribuíram de alguma forma para concretização deste trabalho, minha eterna gratidão.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	i
LISTAS DE FIGURAS	iii
RESUMO GERAL.....	v
GENERAL ABSTRACT.....	vii
1 INTRODUÇÃO GERAL	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1 Nutrição proteica para vacas leiteiras.....	4
2.2 Caracterização da ureia.....	5
2.3 Composição da proteína do leite e uso de diferentes fontes nitrogenadas.....	5
2.4 Nitrogênio ureico no leite.....	9
2.5 Perfil de ácidos graxos e ácido linoleico na gordura do leite.....	11
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	14
CAPÍTULO I.....	20
RESUMO.....	21
ABSTRACT	22
1 INTRODUÇÃO.....	23
2 MATERIAL E MÉTODOS	25
2.1 Local.....	25
2.2 Os animais, os tratamentos, o período experimental e o delineamento estatístico.....	25
2.3 Obtenção do leite.....	27
2.4 Análises físico-químicas do leite.....	27
2.5 Perfil de Ácidos Graxos do leite.....	28
2.6 Índices da qualidade nutricional do leite.....	29
2.7 Análises Estatísticas.....	29
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
CONCLUSÃO.....	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41

CAPÍTULO II	45
RESUMO	46
ABSTRACT	47
1 INTRODUÇÃO	48
2 MATERIAL E MÉTODOS	50
2.1 Local.....	50
2.2 Os animais, os tratamentos, o período experimental e o delineamento estatístico.....	50
2.3 Obtenção do leite.....	52
2.4 Análises físico-químicas do leite.....	52
2.5 Processamento do queijo Minas frescal.....	53
2.6 Textura, Rendimento e Análises físico-químicas do queijo.....	54
2.7 Perfil de Ácidos Graxos do queijo.....	54
2.8 Índices da qualidade nutricional do queijo Minas frescal.....	55
2.9 Análises microbiológicas.....	56
2.10 Análise Sensorial.....	56
2.11 Análises Estatísticas.....	58
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
4 CONCLUSÃO	69
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Composição química da ureia encontrada no Brasil.....5

CAPITULO I

TABELA 2 - Proporção de ingredientes e composição química das dietas experimentais (%), na base da matéria seca (%)......26

TABELA 3 - Composição físico-química, equação de regressão (ER) e coeficientes de variação (CV) do leite de vacas F1 (Holandês x Zebu) alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de ureia e coeficientes de variação.....32

TABELA 4 - Percentual de ácidos graxos do leite de vacas F1 (Holandês x Zebu) alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de ureia.....36

TABELA 5 - Índice de Aterogenecidade, Índice de Trombogenecidade, relação Hiper/Hipocolesterolêmicos, Ácidos Graxos desejáveis, relação de Ácidos Graxos Poli-insaturados/Ácidos Graxos Saturados e relação ômega6/ômega3 do leite de vacas F1 (Holandês x Zebu) alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de ureia.....38

CAPITULO II

TABELA 6 - Proporção de ingredientes e composição química das dietas experimentais (%), na base da matéria seca (%)......51

TABELA 7 - Composição físico-química do leite utilizado para processamento do queijo Minas Frescal.....53

TABELA 8 - Composição físico-química, textura e rendimento do queijo Minas Frescal obtido do leite de vacas F1 (Holandês x Zebu) alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de ureia e coeficiente de variação.....60

TABELA 9 - Percentual de ácidos graxos do queijo Minas frescal obtido do leite de vacas F1 (Holandês x Zebu) alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de ureia.....63

TABELA 10 - Índice de Aterogenecidade, Índice de Trombogenecidade, relação Hiper/Hipocolesterolêmicos, Ácidos Graxos desejáveis, relação de Ácidos Graxos Poli-insaturados/Ácidos Graxos

Saturados e relação ω_6/ω_3 do queijo minas frescal obtido do leite de vacas F1 (Holandês x Zebu) alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de ureia e coeficiente de variação.....65

TABELA 11 - Média de população de coliformes a 35 °C, coliformes a 45 °C e Mesófilos do queijo Minas frescal obtido do leite de vacas F1 (Holandês x Zebu) alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de ureia e coeficiente de variação.....62

TABELA 12 - Médias do teste de aceitação sensorial do queijo Minas Frescal obtido do leite de vacas F1 (Holandês x Zebu) alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de ureia62

LISTAS DE FIGURAS

CAPITULO II

FIGURA 1 – Ficha de avaliação sensorial apresentada aos provadores.....57

RESUMO GERAL

SOUZA, Vanice Mendes de. Composição e processamento do leite de vacas F1 (Holândes x Zebu) alimentadas com níveis crescentes de ureia. 2014. 73 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG.¹

Objetivou-se por meio deste trabalho avaliar a composição e o processamento do leite de vacas F1 (Holandês x Zebu) alimentadas com níveis crescentes de ureia (0, 33 %, 66 % e 100 %, que corresponderam a 0, 0,92, 1,84 e 2,77 % de PB na forma de NNP), em substituição ao farelo de soja. O experimento foi realizado no Departamento de Ciências Agrárias da UNIMONTES, Campus Janaúba-MG. Foram utilizadas quatro dietas experimentais, que foram formuladas de acordo com o NRC (2001) para serem isoproteicas e para um potencial de produção de 10 kg de leite corrigido para 3,5 % de gordura dia⁻¹. O delineamento experimental foram dois quadrados latinos 4 x 4, compostos de quatro animais, quatro tratamentos e quatro períodos experimentais cada. O experimento teve duração de 72 dias, divididos em quatro períodos de 18 dias. Os animais utilizados foram oito vacas primíparas F1 Holandês x Zebu, com período de lactação de aproximadamente 150 dias ao início do experimento. A ração completa foi fornecida duas vezes ao dia, às 8 e às 16 h, e ajustadas diariamente, de modo que as sobras representassem 10 % do total ofertado. As amostras de leite de cada vaca, da ordenha da manhã e da tarde, foram coletadas, misturadas e analisadas quanto à composição físico-química e perfil de ácidos graxos. No terceiro dia de coleta, o leite produzido de cada tratamento foi resfriado para produção de queijo Minas frescal que após o seu processamento foram pesados para determinar o rendimento e analisados quanto à textura e as características físico-químicas. Posteriormente foram submetidos a análises microbiológicas e ao teste de aceitação geral pelo consumidor e perfil de ácidos graxos. Os teores de gordura, proteína, resíduo mineral fixo, lactose, extrato seco total e desengordurado, acidez, densidade, caseína, índice crioscópico, contagem de células somáticas bem como o perfil de ácidos graxos do leite, não sofreram influência dos níveis de inclusão de ureia na dieta, assim como as características de textura, rendimento, composição físico-química, análise sensorial e perfil de ácidos graxos do queijo Minas frescal também não apresentaram diferenças significativas entre as dietas avaliadas. A substituição total do farelo de soja pela ureia não influencia a composição e perfil de ácidos graxos do leite,

¹ **Comitê Orientador:** Prof. Vicente Ribeiro Rocha Júnior – DCA/UNIMONTES (orientador); Prof. José Reinaldo Mendes Ruas – DCA/UNIMONTES (coorientador).

assim como não influencia a textura, rendimento, composição físico-química, aceitação e perfil de ácidos graxos do queijo Minas frescal produzido do leite de vacas primíparas F1 Holandês x Zebu, com produção de até 10 kg de leite corrigido para 3,5% de gordura dia⁻¹.

Palavras-chave: composição físico-química, farelo de soja, leite, nitrogênio não proteico, processamento, queijo Minas frescal.

GENERAL ABSTRACT

SOUZA, Vanice Mendes. Composition and processing of milk from F1 cows (Holstein x Zebu) fed increasing levels of urea. 2014. Chap II, 73 p. Dissertation (Master in Animal Science) - Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG².

The objective of this work was to evaluate the composition and processing of milk from F1 cows (Holstein x Zebu) fed increasing levels of urea (0, 33 %, 66 % and 100 %, corresponding to 0, 0.92, 1.84% CP and 2.77% of CP as NNP), replacing soybean meal. The experiment was conducted at the Department of Agricultural Sciences UNIMONTES Campus Janaúba-MG. Four experimental diets were used, which were formulated according to NRC (2001) to be isoprotein and for a potential production of 10 kg of milk corrected to 3.5 % fat day⁻¹. The experimental design was two 4 x 4 Latin squares consisting of four animals, four treatments and four periods each. The experiment lasted 72 days, divided into four periods of 18 days. We used eight primiparous F1 Holstein x Zebu with lactation period of approximately 150 days in the beginning of the experiment. The complete ration was supplied twice daily, at 8 h and 16 h, and adjusted every day, so that the remains represent 10 % of the total offered. Milk samples from each cow, from milking in the morning and in the afternoon, were collected, mixed and analyzed for physical-chemical composition and fatty acid profile. On the third day of collection, the milk produced from each treatment was cold for the production of Minas fresh cheese that after processing were weighed to determine the yield and analyzed for texture and the physicochemical characteristics. After that, subjected to microbiological analyses and the test of general acceptance by consumer and fatty acid profile. Contents of fat, protein, fixed mineral, lactose, total and nonfat dry extract, acidity, density, casein, cryoscopic index, somatic cell count and the profile of milk fatty acids were not influenced by inclusion levels of urea in the diet, as well as the characteristics of texture, yield, physical and chemical composition, sensory analysis and the Minas fresh cheese fatty acid profile also did not show significant differences between diets evaluated. Total replacement of soybean meal for urea does not influence the composition and milk fatty acid, as well as it does not influence the texture, yield, physical and chemical composition, acceptance and fatty acid profile of Minas fresh cheese from milk of cows primiparous F1 Holstein x Zebu, producing up to 10 kg/day L⁻¹.

² **Guidance Committee:** Prof. Vicente Ribeiro Rocha Júnior – ASD/UNIMONTES (Adviser); Prof. José Reinaldo Mendes Ruas –ASD/UNIMONTES (co-adviser)

Keywords: physicochemical composition, soybean meal, milk, non-protein nitrogen, processing, Minas fresh cheese.

1 INTRODUÇÃO GERAL

As despesas com a alimentação aumentam de forma significativa os custos de produção da atividade leiteira. Dessa forma, o uso de alimentos alternativos que substituam fontes de proteína comumente utilizadas na alimentação de ruminantes é assunto de grande interesse para a atividade pecuária. Nesse sentido, a utilização da ureia como um substituto nitrogenado da proteína verdadeira em dietas de vacas leiteiras apresenta grande aplicabilidade, uma vez que, comparada a outras fontes de nitrogênio, é economicamente mais viável e, quando utilizada de forma adequada, tem condições de manter bons níveis de produção (GUIMARÃES JUNIOR *et al.*, 2007).

Com isso, pesquisas sobre o uso de fontes de compostos nitrogenados para vacas leiteiras têm sido desenvolvidas, objetivando maximizar a eficiência de utilização dos compostos nitrogenados dietéticos, melhorar o desempenho animal e reduzir as perdas de nitrogênio para o ambiente (SANTOS *et al.*, 1998). Sabe-se que a eficiência de utilização da fonte nitrogenada dietética está relacionada à redução no custo de produção. Sendo assim, uma alternativa viável para minimizar esse custo é a substituição parcial da proteína por nitrogênio não proteico (NNP). No entanto, a adoção de NNP na dieta pode alterar a composição da proteína do leite, influenciando seu processamento industrial, já que os teores de proteína verdadeira e da caseína têm influência direta sobre a fabricação do queijo (EMMONS *et al.*, 2003).

Como ruminante, a vaca leiteira utiliza o NNP, sendo este transformado rapidamente em amônia com custo energético menor que o despendido para utilização de proteína verdadeira (AQUINO *et al.*, 2009). O consumo excessivo de proteína pode aumentar o custo da ração e ainda afetar o desempenho reprodutivo do animal por elevar sua exigência em energia (BRODERICK *et al.*, 1997). Muitos estudos têm correlacionado a

suplementação de proteína na dieta com seu metabolismo (HOJMAN *et al.*, 2004), por meio das concentrações no plasma, sangue e leite, com o objetivo de maximizar o uso de nitrogênio na ração de vacas leiteiras, explorando a utilização de fontes proteicas e seus benefícios sobre a produção, qualidade e processamento do leite.

Segundo Brito e Brito (1998), do ponto de vista de controle de qualidade, o leite e os derivados lácteos estão entre os alimentos mais testados e avaliados, principalmente devido à importância que representam na alimentação humana e à sua natureza perecível. Os testes empregados para avaliar a qualidade do leite fluido constituem normas regulamentares em todos os países, havendo pequena variação entre os parâmetros avaliados e/ou tipos de testes empregados. De modo geral, são avaliadas características físico-química e sensorial como: sabor, odor e são definidos parâmetros de baixa contagem de bactérias, ausência de micro-organismos patogênicos, baixa contagem de células somáticas, ausência de conservantes químicos e de resíduos de antibióticos, pesticidas ou outras drogas.

As fontes proteicas tradicionais, em especial o farelo de soja, são os ingredientes mais onerosos na formulação de dietas para vacas em lactação, devido à alta exigência e custos elevados. Assim, o uso de ureia como fonte de nitrogênio não proteico (NNP) pode ser alternativa para reduzir esses custos. Dessa forma, alguns autores avaliaram o efeito do uso de ureia, em substituição ao farelo de soja, na dieta de vacas em lactação sobre as características de composição e processamento do leite. Saran Neto *et al.* (2011), ao comparar a substituição parcial de farelo de soja por ureia na alimentação de vacas Girolanda em lactação sobre a produtividade e qualidade do leite, não encontraram efeito significativo dos tratamentos sobre as características de composição do leite analisadas. Aguiar *et al.* (2013), avaliando consumo, produção e processamento do leite de vacas 7/8 Holandês/Gir alimentadas com dietas à base de silagem de cana-de-açúcar, contendo níveis crescentes de ureia em substituição ao farelo de soja, também não verificaram influência da inclusão de ureia na dieta das vacas

sobre produção, composição físico-química do leite e do queijo Minas frescal, nem sobre o rendimento do queijo Minas frescal.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar os efeitos da substituição parcial e total do farelo de soja pela ureia na dieta de vacas F1 (Holândes x Zebu) sobre a composição e processamento do leite para fabricação de queijo Minas frescal.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Nutrição proteica para vacas leiteiras

Diversos estudos foram conduzidos nos últimos 30 anos sobre o uso de fontes proteicas para vacas leiteiras, tendo como objetivo a eficiência de utilização da proteína dietética melhorar o desempenho animal e reduzir perdas de nitrogênio para o ambiente (SANTOS *et al.*, 1998).

O objetivo da nutrição proteica para ruminantes é disponibilizar ao animal uma adequada quantidade de proteína degradável no rúmen (PDR), para que ocorra eficiência dos processos digestivos nesse compartimento gástrico e, conseqüentemente, otimizar o desempenho animal com a mínima quantidade de proteína bruta dietética (NRC, 2001). Conforme este comitê, a maximização da eficiência do uso da proteína bruta dietética requer a seleção de alimentos proteicos e suplementos de nitrogênio não proteico (NNP), que possam disponibilizar quantidades adequadas de PDR que satisfaçam, mas não excedam as exigências de nitrogênio necessário para máxima síntese de proteína microbiana, e, em determinadas situações, utilizar adequadas fontes de proteína não degradável no rúmen (PNDR) para o fornecimento de aminoácidos (AAs) absorvíveis no intestino delgado em complementação à PDR.

O NNP não se apresenta como aminoácidos reunidos por vínculo formando peptídeos, mas consiste em fonte de nitrogênio, que juntamente com os substratos presentes no rúmen, principalmente energia, se transforma em proteína de alta qualidade. Existe grande variedade de compostos caracterizados como NNP, tais como os compostos de purinas e pirimidinas, ureia, amireia, biureto, ácido úrico, glicosídeos nitrogenados, alcaloides, sais de amônio e nitratos (SANTOS *et al.*, 2001a)

2.2 Caracterização da ureia

Descoberta por Hilaire Rouelle em 1777, a ureia só foi sintetizada artificialmente em 1828, por Friedrich Wohler (LOOSL; MCDONALD, 1968), abolindo a teoria de que os compostos orgânicos só poderiam ser sintetizados pelos organismos vivos (Teoria da força vital). A sua produção em escala industrial iniciou-se em 1870, quando Bassarow conseguiu sintetizá-la a partir do gás carbônico e da amônia, porém a sua utilização na alimentação de ruminantes só teve início em 1914. Nesse período, a escassez de alimento ocasionada pela Primeira Guerra Mundial impulsionou a Alemanha a intensificar a produção de ureia, visando à redução de custos na produção de carne e leite. A ureia tem sido usada na dieta de bovinos por dois motivos básicos. Do ponto de vista nutricional, ela é utilizada para adequar a ração em proteína degradável no rúmen (PDR), e, do econômico, ela é utilizada com o intuito de baixar o custo com suplementação proteica (SANTOS *et al.*, 2006).

TABELA 1. Composição química da ureia encontrada no Brasil

Compostos	Concentração (%)
Nitrogênio	46,4
Bioreto	0,55
Água	0,25
Amônio livre	0,008
Cinzas	0,003
Ferro e Chumbo	0,003

Fonte: Santos *et al.* (2001)

2.3 Composição da proteína do leite e uso de diferentes fontes nitrogenadas

O leite apresenta, além das proteínas e peptídeos, uma fração de compostos nitrogenados não proteicos (NNP), que pode perfazer aproximadamente 5 % do total de nitrogênio do leite, de acordo com Farrel *et al.* (2004). Estes compostos são principalmente originários do sangue,

incluindo substâncias como a ureia, a creatina e a creatinina. De acordo com DePeters e Cant (1992), a maior porção de NNP é nitrogênio na forma de ureia (48 %), o qual entra livremente na glândula mamária, por difusão, para equilibrar sua concentração com a do plasma sanguíneo.

Sob o ponto de vista nutricional, é importante destacar que fontes de nitrogênio da dieta podem alterar a composição da proteína do leite e tem sido prática comum o uso de fontes de proteína de baixa degradabilidade ruminal, com o objetivo de elevar as concentrações de proteína láctea. Essa elevação poderia ser fisiologicamente explicada pelo fato de que o escape da fermentação ruminal (pela composição de aminoácidos da fonte de proteína) levaria ao aumento da concentração de proteína para ser absorvida no duodeno (SANTOS *et al.*, 1996).

Por outro lado, em alguns estudos avaliou-se o uso de nitrogênio não proteico e de fontes de proteína na ração com diferentes taxas de degradabilidade ruminal sobre a composição química do leite. Broderick *et al.* (1993), ao compararem o uso de ureia e proteína verdadeira como suplemento para vacas lactantes alimentadas com dietas à base de alfafa, silagem de milho e grão de milho, observaram que as concentrações de amônia ruminal e nitrogênio ureico do leite foram mais baixas, de acordo com a diminuição da degradabilidade das dietas.

Em outros estudos analisou-se o uso de nitrogênio não proteico e fontes de proteína de diferentes degradabilidades na composição do leite, incluindo a concentração de proteína láctea. Entretanto, poucos descreveram o uso dessas fontes e seu impacto sobre a composição da proteína do leite. Baker *et al.* (1995) estudaram os efeitos da concentração, degradabilidade e qualidade da proteína da dieta sobre a concentração de proteína do leite. Os resultados demonstraram que a concentração de proteína verdadeira do leite foi influenciada pelo suprimento de proteína degradável no rúmen (PDR) e as dietas deficientes em PDR apresentaram menor concentração de proteína verdadeira no leite. Roseler *et al.* (1993) estudaram o efeito de dietas com diferentes degradabilidades sobre as concentrações de nitrogênio não

proteico (NNP) e nitrogênio ureico do leite (NUL) de vacas e verificaram que a ingestão de dietas ricas em proteína não degradável no rúmen (PNDR) elevou os teores de nitrogênio ureico no plasma e no leite. Além disso, os autores concluíram que a produção de proteína verdadeira foi positivamente correlacionada à produção de leite, à ingestão de proteína não degradável e à ingestão de energia líquida.

Oliveira *et al.* (2001), avaliando consumo, digestibilidade aparente, produção e composição do leite de vacas alimentadas com quatro diferentes quantidades de ureia, concluíram que a adição de teores crescente de NNP em substituição à proteína verdadeira reduziu o consumo de alimentos, sendo que o teor e a produção de proteína diminuíram linearmente com o aumento da ureia na dieta. De forma semelhante, DePeters e Palmquist (1990) utilizaram farinha de peixe como fonte de proteína não degradável (rica em lisina e metionina) para vacas em lactação e constataram aumento na concentração da proteína verdadeira do leite, incluindo elevação na caseína.

Winsryg *et al.* (1991) utilizaram somatotropina na dieta de vacas em lactação com o propósito de verificar o efeito da degradabilidade de diversas fontes de proteína na produção e composição do leite. Os animais do grupo controle receberam dieta à base de farelo de soja, enquanto o grupo tratado foi alimentado com glúten de milho e farinha de carne e ossos, como fonte de proteína não degradável, constituindo 33 % de PNDR na proteína total. Os pesquisadores concluíram que o aumento da ingestão de PNDR elevou a concentração de proteína total e a porcentagem de caseína do leite (3,14 % x 2,86 % de proteína total e 62,11 % x 58,24 % de caseína) para os grupos controle e tratado, respectivamente.

Por outro lado, Bateman *et al.* (1999), avaliando fontes proteicas ricas em PNDR, comparadas com farelo de soja e ureia, em associação com aminoácidos protegidos em dietas baseadas em feno de alfafa, verificaram que a fonte de proteína não alterou a produção e o teor de caseína do leite. Carmo *et al.* (2005) destacaram que a suplementação de teores elevados de

NNP (2 % de ureia) na MS da dieta de vacas em final de lactação em substituição parcial ao farelo de soja, pode ser realizada sem comprometimento do desempenho animal, uma vez que não foram observadas alterações na produção e teor de proteína bruta (PB) do leite.

Em uma série de experimentos realizados na França, foram estudados os fatores que contribuem para variação na proporção de caseína, como parte da proteína verdadeira do leite de vacas. Além da variante genética e da concentração de células somáticas, foram estudados fatores dietéticos como quantidade e tipo da fonte de nitrogênio. Concluiu-se que a suplementação com melhor balanço de aminoácidos (farelo de soja x glúten de milho e farinha de peixe x farelo de soja) melhorou a relação caseína:proteína total. Por outro lado, a suplementação ruminal de lisina e metionina aumentou as concentrações de proteína do leite, mas não elevou as concentrações de caseína (COULON *et al.*, 1998).

Trabalhos de pesquisa correlacionando fonte de proteína e a composição proteica do leite também foram desenvolvidos em caprinos. Neste sentido, Sampelayo *et al.* (1999) descreveram que a proteína rapidamente degradável no rúmen constitui a fração mais associada à produção de proteína do leite e, em especial, às suas frações de caseína (alfa e beta), independentemente da composição de aminoácidos da proteína dietética. Em outro estudo, Sampelayo *et al.* (1998), avaliando a influência de quatro diferentes fontes de proteína (grãos, caroço de algodão, glúten de milho e farelo de soja), sobre produção, concentração e composição da proteína láctea, observaram que o leite das cabras recebendo dietas à base de glúten de milho apresentou as maiores concentrações de proteína e de caseína, com a fração beta presente em maior quantidade.

Carmo *et al.* (2005) avaliaram a inclusão de 2 % de ureia em substituição ao farelo de soja para vacas leiteiras da raça Holandesa com produção média de 20 kg de leite/dia. Os autores concluíram que para esses animais em final de lactação, a utilização de NNP (2 % de ureia), em

substituição parcial do farelo de soja, pode ser efetuada sem prejuízo sobre o desempenho produtivo e sem alterações da composição do leite.

Souza *et al.* (2010) analisaram os efeitos da ureia protegida em substituição ao farelo de soja, na dieta de vacas leiteiras da raça holandesa sobre produção e composição do leite e constataram que não houve diferenças ($P>0,05$) nas produções diárias de leite e sólidos totais, nitrogênio ureico e contagem de células somáticas. Dessa forma, a substituição parcial do farelo de soja por ureia protegida pode ser efetuada sem prejuízos sobre desempenho produtivo das vacas em lactação.

Saran Neto *et al.* (2011), ao comparar a substituição parcial de farelo de soja por ureia na alimentação de vacas Girolanda em lactação sobre a produtividade e qualidade, verificaram que a produtividade bem como a qualidade do leite foi maior ($P<0,05$) nos animais que receberam concentrado contendo ureia do que no grupo controle. Os teores de gordura, proteína, lactose e sólidos totais, a densidade e a acidez titulável do leite, bem como a concentração de ureia no plasma sanguíneo e a contagem de células somáticas, não sofreram efeito ($P>0,05$) dos tratamentos.

Aguiar *et al.* (2013), avaliando consumo, produção e processamento do leite de vacas 7/8 Holandês/Gir alimentadas com dietas à base de cana-de-açúcar (relação volumoso:concentrado 45:55), contendo níveis crescentes de ureia em substituição ao farelo de soja (0; 0,58; 1,17, 1,75 % na MS total da dieta), observaram que a produção de leite (27 kg/dia) e a composição físico-química do leite e do queijo Minas frescal assim como o rendimento do queijo não foram influenciados pela inclusão da ureia na dieta das vacas.

2.4 Nitrogênio ureico no leite

Atualmente, existe grande interesse no uso da concentração de nitrogênio ureico do leite (NUL) como parâmetro para a avaliação nutricional do rebanho, especialmente quanto à nutrição proteica. Isso porque o NUL está correlacionado diretamente com os níveis de ureia

presentes no plasma e no sangue (DEPETERS e FERGUSON, 1992). No entanto, para usar os valores de NUL com segurança é importante conhecer os fatores nutricionais e não nutricionais que influenciam sua concentração.

O leite apresenta, além das proteínas e peptídeos, uma fração de compostos nitrogenados não proteicos que pode perfazer, aproximadamente, 5 % do total de nitrogênio do leite, de acordo com Farrell *et al.* (2004). Esses compostos são, principalmente, originários do sangue, incluindo substâncias como a ureia, a creatinina e a creatina. Conforme esses autores, a maior proporção do NNP é nitrogênio na forma de ureia (48 %), o qual entra livremente na glândula mamária, por difusão, para equilibrar sua concentração com a do plasma sanguíneo.

A utilização de dietas com alto teor proteico, especialmente proteína de rápida degradabilidade retículo-ruminal ou dietas com desbalanço entre carboidratos e nitrogênio, pode elevar a concentração de nitrogênio não proteico no leite, mensurável pela quantificação da ureia ou outra fonte de nitrogênio não proteico no leite. A ureia no leite (MUN – “*milk urea nitrogen*” ou NUL – “*nitrogênio ureico no leite*”) é altamente relacionada com a ureia sanguínea que, por sua vez, reflete o excesso de proteína ou insuficiência de carboidratos fermentáveis no retículo-rúmen. Cada unidade de NUL representa a necessidade de excreção de aproximadamente 90 g de proteína, ou 180 g de farelo de soja (LINN e OLSON, 1995).

De acordo com Gaona (2002), os níveis de ureia aceitos como normais são valores entre 10 e 16 mg/dL no leite. Torrent (2000), por sua vez, comenta que os valores de ureia em leite em vacas com uma ingestão ótima de matéria seca enquadram-se tipicamente na faixa de 12-18 mg/dL.

De forma geral, concentrações aceitáveis de NUL variam entre 10 e 18 mg/dL. Concentrações acima desse valor indicam excesso de proteína degradável, solúvel e/ou falta de carboidratos. Quando o NUL está alto e a proteína do leite baixa, a maior probabilidade é que haja excesso de proteína degradável e falta de carboidratos fermentáveis no retículo-rúmen. Caso o NUL seja alto, mas a proteína do leite esteja normal, apenas a primeira

situação poderá estar ocorrendo, excesso de proteína degradada no retículo-rúmen (LINN e OLSON, 1995).

Diversos fatores nutricionais podem influenciar o aumento de NUL, tais como: aumento da proporção de proteína dietética sendo convertida em amônia, diminuição na ingestão de energia disponível para a síntese de proteína microbiana, aumento da saída de amônia pela parede ruminal; aumento do pH ruminal levando ao aumento de NH_3 , o qual atravessa a parede ruminal com maior velocidade que NH_4 (NRC, 1989).

Butler (2004) postulou que o aumento na concentração proteica (% PB) ou de proteína degradável (% PDR/PB) ou solúvel (% SolP/PB) no rúmen provocaria efeitos prejudiciais aos índices reprodutivos de rebanhos compostos por vacas leiteiras de alta produção. Segundo esse autor, as taxas de prenhez caíram, aproximadamente, 20 %, quando a concentração de ureia no leite ultrapassou 19 mg/dL. Ao citar outros trabalhos, o mesmo autor sugeriu valor de 15,4 mg/dL de leite. Em trabalhos nacionais, Pereira (2005) suplementou vacas Holândes com 6,0 kg/dia de concentrado com concentrações crescentes de PB: 15,2; 18,2 e 21,1 %. O autor observou NUL de 14,1; 14,6 e 15,8 mg/dL, respectivamente, para os suplementos testados, não sendo constatado efeito ($P>0,05$) do teor nem do consumo diário de PB sobre o NUL.

2.5 Perfil de ácidos graxos e ácido linoleico na gordura do leite

Segundo Grummer (1991), aproximadamente 50 % dos ácidos graxos (AG) encontrados na gordura do leite provêm do sangue, dos quais 88 % são originados da dieta e 12 % de contribuição endógena. Esses ácidos graxos são derivados de quilomicrons e, principalmente, das lipoproteínas de muito baixa densidade, sintetizadas no epitélio intestinal e no fígado.

A gordura do leite é constituída primariamente por triacilgliceróis que são sintetizados nas células epiteliais da glândula mamária, sendo que os ácidos graxos que compõem o leite são originados de duas fontes principais:

triacilgliceróis circulantes no sangue, oriundos da mobilização de reservas corporais ou dos ácidos graxos absorvidos da dieta, e da “*síntese de novo*” de ácidos graxos (HILLBRICK e AUGUSTIN, 2002).

Os ácidos graxos de cadeia curta (de 4 a 10 carbonos) e os de cadeia média (de 12 a 14 carbonos) são produzidos quase que exclusivamente na “*síntese de novo*” pela glândula mamária a partir do acetato e butirato. Os ácidos graxos de cadeia longa (acima de 16 carbonos) derivam da captura de lipídeos circulantes na corrente sanguínea, e aqueles com comprimento de 16 carbonos podem ser originários de ambas as fontes (BAUMAN e GRINARI, 2003).

O perfil de ácidos graxos do leite caracteriza-se por conter desde ácidos graxos de cadeia curta até ácidos graxos de cadeia muito longa, com até 26 carbonos, incluindo ácidos graxos com número ímpar de carbono e de cadeia ramificada. Esse perfil é fortemente influenciado pelo período da lactação em razão da necessidade da mobilização de reservas lipídicas no início da lactação (DEPETERS e CANT, 1992).

A glândula mamária tem a capacidade de transformar em gordura láctea os lipídeos, os ácidos graxos voláteis, os corpos cetônicos presentes na circulação sanguínea e os ácidos graxos mobilizados das reservas corporais e da síntese bacteriana. Devido a essa característica, já foram descritos mais de 400 ácidos graxos diferentes no leite (PALMQUIST, 1991). Outra importante propriedade da glândula mamária é a de converter ácidos graxos saturados em monoinsaturados, contribuindo para assegurar a fluidez normal ao leite (GRUMMER *et al.*, 1991).

Os principais ácidos graxos do leite são: mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), oleico (C18:1), linoleico (C18:2) e o linolênico (C18:3). O ácido butírico é próprio da gordura do leite de ruminantes sendo responsável, juntamente com o ácido caprótico, pelo aroma característico do leite quando são hidrolizados do glicerol pela ação de lípases. Os ácidos graxos saturados são predominantes no leite, formam de 60 a 70 % dos

triacilgliceróis. Já os monoinsaturados correspondem de 25 % a 30 %. (DEPETERS e CANT, 1992; HILLBRICK e ALGUSTIN, 2002).

Os ácidos linoleicos conjugados (CLA) são isômeros posicionais e geométricos do ácido octadecenoico com duas duplas ligações insaturadas conjugadas em distintas conformações pela cadeia carbônica. Cada dupla ligação pode ser *cis* ou *trans*. Pelo fato de existirem várias posições das ligações duplas (7-9, 8-10, 9-11, 10-12, etc) e devido às configurações das duplas ligações (*cis-cis*, *cis-trans*, *trans-cis*, *trans-trans*), existe a possibilidade de formação de mais de 20 isômeros.

Entre os isômeros, o predominante é o C18:2 *cis-9 trans-11* que representa de 80 a 90 % dos CLA encontrados na gordura do leite, seguido pelo C18:2 *trans-10, cis-12* e o C18:2 *cis-9, cis-12* representando entre 3 e 5 % do total. Por ser derivado do processo de bio-hidrogenação ruminal e pelo fato de ser encontrado em maior concentração em produtos de ruminantes, o isômero C18:2 *cis-9 trans-11* tem sido denominado comumente de ácido rumênico (BAUMAN *et al.*, 1999; PALMQUIST, 2001).

O principal interesse no aumento da concentração de CLA no leite e nos demais produtos alimentares de origem animal é que esse ácido graxo, além de apresentar comprovadamente propriedades antimutagênicas e anticarcinogênicas (HA *et al.*, 1987), atua na redução de agentes citotóxicos existentes nas células cancerígenas (PARODI, 1994). Além disso, o CLA apresenta ainda uma série de outras características benéficas à saúde, pois desencadeia estímulos de resposta imune contra a aterosclerose (LEE *et al.*, 1994), apresenta propriedade hipocolesterolêmica (KELLY e BAUMAN, 1996) e atividades na prevenção de outras doenças como diabetes (HOUSEKNECHT *et al.*, 1998) e obesidade, além de atuar como um poderoso antioxidante (PARK *et al.*, 1999).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, A. C. R. *et al.* Consumo, produção e composição do leite e do queijo de vacas alimentadas com níveis crescentes de ureia. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 1, p. 37-42, 2013.
- AQUINO, A. A. *et al.* Efeito de níveis crescentes de uréia na dieta de vacas leiteiras sobre a composição e rendimento de fabricação de queijos minas frescal. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 46, n. 4, p. 273-279, 2009
- BAKER, C. D.; FERGUSON, J. D.; CHALUPA, W. Responses in urea and true protein feeding schemes for protein of milk to different dairy cows. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v. 78, n. 24, p. 24-34. 1995.
- BATEMAN, H.G.; SPAIN, J. N.; KERLEY, M. S. Evaluation of ruminally protected methionine and lysine or blood meal and fish meal as protein sources for lactating holsterning. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v. 82, p. 2115-2120. 1999.
- BAUMAN, D. E.; GRIINARI, J. M.. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v. 23, p. 203–227, 2003.
- BAUMAN, D. E. *et al* Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. **Proceedings of the American Society of Animal Science**, Madison, p. 1-15, 1999. Disponível em: < <http://www.animal-science.org/content/77/E-Suppl/1.32.full.pdf>>. Acesso em: 18 fev. 2014.
- BRODERICK, G. A.; GRAING, W. M.; RICKER, D. B. Urea versus true protein as supplement for lactating dairy cows fed grain plus mixtures of alfafa and corn silagens. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v. 76, p. 2266-2274, 1993.
- BRODERICK, G. A.; CLAYTON, M. K. A statistical of animal and nutrition factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, p. 2964-2971, 1997.

BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P. Descomplicando as células somáticas. In: BRITO, J. R. F.; DIAS, J. C. **A qualidade do leite**. Juiz de Fora: EMBRAPA, 1998. p. 75-82

BUTLER, W. R. Relação entre a concentração de proteína da dieta, ambiente uterino e concepção em vacas leiteiras. In.: NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS. 2004, Uberlândia. **Anais...** Botucatu: Conapec, 2004, p. 101-109.

CARMO, C. A.; SANTOS, F. A. P.; IMAIZUMI, H. Substituição do farelo de soja por uréia ou amireia para vacas em final de lactação. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 27, n. 2, p. 277-286, 2005

COULON, J. B. . *et al.* Factores contributing to variation in the proportion of casein in cows' milk true protein: a review of recent inra experiments. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v. 65, p. 375-387, 1998.

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

DEPETERS E. J.; FERGUSON J. D. Non protein nitrogen and protein distribution in the milk of cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, n. 11, p. 3192-3209, 1992.

DEPETERES, E. J.; PALMQUIST. D. J. Effect of fish mead and calcium salts of long chain fatty acids on the nitrogen content of milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 73, p. 242-246, 1990.

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

FARRELL JR. *et al.* Nomenclature of the proteins of cows' milk—Sixth revision. **Journal of Dairy Science** , Champaign, v. 87, n. 11, p. 1641–1674, 2004.

GAONA, R. C. Alguns indicadores metabólicos no leite para avaliar a relação nutrição: fertilidade. In: CONGRESSO NACIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 29, 2002, Gramado-RS. **Anais...** Gramado: Conbravet, 2000. p. 40-48.

GRUMMER, R. R. Effect of Feed on the Composition of Milk Fat. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, p. 3244-3257, 1991.

GUIMARÃES JR, R. *et al.* **Uréia na alimentação de vacas leiteiras.** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2007.

HA, Y. L.; GRIMM, N. K.; PARIZA, M. W. Anticarcinogens from fried ground beef: heat altered derivatives of linoleic acid. **Carcinogenesis**, Oxford, v. 8, p. 1881-1887, 1987.

HARA, A.; RADIN, N. S. Lipid extraciton of tissues with lowtoxicity solvent. **Analitical Biochemistry**, New York, v. 90, p. 420-426, 1978.

HOJMAN, D. Relationships between milk urea and production, nutrition and fertility traits in Israeli dairy HERDS. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v. 1001-1011, 2004.

HOUSEKNECHT, K. L. *et al.* Dietary conjugated linoleic acid normalizes impaired glucose tolerance in the Zucker diabetic fatty *falfa* rat. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, New York, v. 244, n. 3, p. 678-682, 1998.

HILBRICK, G.; ALGUSTIN, H. A. Milk fat characteristics and functionality: opportunities for improvement. **Australian Journal of Dairy Technology**, Highett, v. 57, n. 1, p. 45-51, 2002.

KELLY, M. L.; BAUMAN, D. E. Conjugated linoleic acid: a potent anticarcinogen found in milk fat. In: CORNELL NUTRITIONAL CONFERENCE, 1996, Ithaca. **Anais...** Ithaca: [s.n.], 1996. p. 68-74.

LEE, K. N.; KRITCHEVSKY, D.; PARIZA, M. W. Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. **Atherosclerosis**, Amsterdam, v. 108, n. 1, p. 19-25, 1994.

LINN, J. G.; OLSON, J. D. **Using milk urea nitrogen to evaluate diets and reproductive performance of dairy cattle in 4-State Applied Nutrition And Management Conf., La- Crosse, WI.** Madison-WI: Univ. of Wisconsin, 1995. p. 155–167.

LOOSLI, J. K.; McDONALD, I. W. **Nonprotein nitrogen in the nutrition of ruminants.** Roma: FAO, 1968. 94 p. (FAO Agricultural studies, 73).

NATIONAL RESEARCH COUNCIL-NRC. **Nutrient requeriments of dairy cattle.** 7th ed. Washington; 2001. 381p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle.** Washington, DC: National Academy of Science, National Academy Press, 1989.

OLIVEIRA, A. S. *et al.* Consumo, digestibilidade aparente, produção e composição do leite de vacas alimentadas com quatro níveis de nitrogênio não-proteico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa-MG, v. 30, n. 4, p. 1358-1366, 2001.

PALMIQUIST, D. L. GRINARI, M. Dietary fish oil plus vegetable oil maximizes trans – 18:1 and rumenic acid in milk fat. **Jornal of Animal Science**, Champaign, v. 79, p. 1283, 2001, supplement 1.

PALMQUIST, D. L. Influence of source and dietary fat on digestibility in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 4, p. 1354-1360, 1991.

PARODI, P.W. Conjugated linoleic acid: an anticarcinogenic fatty acid present in milk. **Australian Journal of Dairy Technology**, Werribee, v. 49, p. 93-97, 1994.

PARK, Y. *et al.* Evidence that the *trans*-10, *cis*-12 isomer of conjugated linoleic acids induces body composition changes in mice. **Lipids**, Chicago, v. 34, n. 3, p. 235-241, 1999.

PEREIRA, E. S. *et al.* Importância da inter-relação carboidrato e proteína em dietas de ruminantes **Seminário: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 1, p. 125-134, 2005.

ROSELER, D. K. *et al.* Dietary protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk nonprotein nitrogen holstein cows. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v. 76, p. 525-534, 1993.

SAMPELAYO, M. R. S.; PÉREZ, M. L.; GIL EXTREMERA, F. Use de different dietary protein sources for lactating goats: Milk production and composition as functions of protein degradability and amino acid composition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 82, p. 555-565, 1999.

SAMPELAYO, M. R. S. *et al.* Use of diets with different protein sources in lactating goats: Composition of milk and its suitability for cheese production. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 31, p. 37-43, 1998.

SANTOS, F. P.; HEBER, J. T. Quality of bypass protein fed to high-producing cow is important. **Feedstuffs**. Minnetonka, v. 68, p. 12-15, 1996.

SANTOS, F. A. P. *et al.* Milk yield and composition of lactating cows fed steam-flaked sorghum and graded concentrations of ruminally degradable protein. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, p. 215-220. 1998.

SANTOS, G. T, CAVALIERI, F. L. B; MODESTO, L. C. Recentes avanços em nitrogênio não protéico na nutrição de vacas leiteiras. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM BOVINOCULTURA DE LEITE: Novos conceitos em nutrição, 2; 2001, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2001. p. 199-228.

SANTOS, J. E. P. *et al.* Effect of prepartum dietary protein level on performance of primigravid and multiparous holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v. 84, p. 213-24, 2001a.

SANTOS, M. V.; AQUINO, A. A.; REAL, Y. L. V. Efeito de níveis crescentes de uréia na dieta de vacas em lactação, sobre o consumo, produção e composição do leite. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43, 2006, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa, PB: SBZ, 2006. CD-ROM.

SARAN NETTO, A.; BARCELOS, B.; CONTI, R. M. C. Substituição parcial de farelo de soja por uréia na alimentação de vacas Girolanda em lactação. **Journal of the Health Sciences Institute**, Pirassununga, SP, v. 29, n. 2, p. 139-142. 2011.

SOUZA, V. L. *et al.* Substituição parcial de farelo de soja por ureia protegida na produção e composição do leite. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 62, n. 6, p. 1415-1422, 2010.

TORRENT, J. Nitrogênio uréico no leite e qualidade do leite. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 2., 2000, Curitiba. **Anais...** Curitiba: Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa/Universidade Federal do Paraná, 2000. p. 27-29.

WINSRYG, M. D.; ARAMBEL, M. J.; WATERS, J. L. The effect of protein degradability on milk composition and production of early lactation, somatotropin-injected cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, 1648-1653, 1991.

CAPÍTULO I

COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE DE VACAS F1 (HOLANDÊS X ZEBU) ALIMENTADAS COM NÍVEIS CRESCENTES DE UREIA

RESUMO

SOUZA, Vanice Mendes de. Composição físico-química e perfil de ácidos graxos do leite de vacas F1 (Holandês x Zebu) alimentadas com níveis crescentes de ureia. 2014. p. 20-44. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG.

Objetivou-se por meio deste trabalho avaliar a composição físico-química e o perfil de ácidos graxos do leite de vacas F1 (Holandês x Zebu) alimentadas níveis crescentes de ureia (0; 33 %; 66 % e 100 %, que corresponderam a 0, 0,92, 1,84 e 2,77 % de PB na forma de NNP), em substituição ao farelo de soja. O experimento foi realizado na Fazenda Experimental da Unimontes, localizada em Janaúba-MG. Foram utilizadas oito vacas F1 Holandês x Zebu, primíparas, com aproximadamente 150 dias de lactação ao início do experimento e produção média de 10 kg de leite corrigido para 3,5 % de gordura dia⁻¹, em dois quadrados latinos 4 x 4 (4 animais, 4 dietas, 4 períodos). Os períodos foram de dezoito dias, sendo quinze dias de adaptação e três dias de coletas de dados. As amostras de leite de cada vaca, da ordenha da manhã e da tarde, foram coletadas e analisadas quanto à composição e ao perfil de ácidos graxos. O nitrogênio ureico no leite aumentou linearmente (P<0,05) em função dos níveis de ureia na dieta. Quanto aos teores de gordura, proteína, resíduo mineral fixo, lactose, extrato seco total e desengordurado, acidez, densidade, caseína, índice crioscópico, contagem de células somáticas, bem como o perfil de ácidos graxos do leite, não sofreram efeito dos tratamentos. Portanto, conclui-se que a substituição total do farelo de soja pela ureia não influencia composição e nem o perfil de ácidos graxos do leite de vacas primíparas F1 Holandês x Zebu, com produção de até 10 kg de leite corrigido para 3,5% de gordura dia⁻¹.

Palavras-Chave: composição físico-química, farelo de soja, leite, nitrogênio não proteico.

¹ **Comitê Orientador:** Prof. Vicente Ribeiro Rocha Júnior – DCA/UNIMONTES (orientador); Prof. José Reinaldo Mendes Ruas – DCA/UNIMONTES (coorientador).

ABSTRACT

SOUZA, Vanice Mendes. Physical and chemical composition and fatty acid profile of milk from F1 (Holstein x Zebu) cows fed increasing levels of urea. 2014. Chapter II. p. 20-44. Dissertation (Master in Animal Science) - Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG.

This work aimed at evaluating the physical-chemical composition and fatty acid profile of milk from F1 (Holstein x Zebu) cows fed increasing levels of urea (0, 33 %, 66 % and 100 %, corresponding to 0, 0.92, 1.84 and 2.77 % CP as NNP), replacing soybean meal. The experiment was conducted at the Experimental Farm of the Unimontes located in Janaúba-MG. Eight primiparous cows F1 Holstein x Zebu were used, with approximately 150 days of lactation and average production of 10 kg of milk corrected to 3.5 % fat day⁻¹, in two 4 x 4 Latin square (4 animals, 4 diets, 4 periods). Periods were of eighteen days, fifteen days of adaptation and three days of data collection. Milk samples from each cow, from morning and afternoon milking, were collected and analyzed for composition and fatty acid profile. The urea nitrogen of the milk increased linearly ($P < 0.05$) according to the level of urea in the diet. As for fat, protein, fixed mineral residue, lactose, and total dry and nonfat extract, acidity, density, casein, cryoscopic index, somatic cell count, as well as the milk fatty acids profile were not affected by treatments. Therefore, it is concluded that the total replacement of soybean meal by urea does not influence the composition neither fatty acid profile of milk from primiparous F1 Holstein x Zebu cows, producing up to 10 kg corrected to 3.5 % of fat day⁻¹.

Keywords: physical and chemical composition, soybean meal, milk, non-protein nitrogen.

² **Guidance Committee:** Prof. Vicente Ribeiro Rocha Júnior – ASD/UNIMONTES (Adviser); Prof. José Reinaldo Mendes Ruas –ASD/UNIMONTES (co-adviser)

1 INTRODUÇÃO

A alimentação representa entre 40 e 60 % do custo total no sistema de produção leiteira. Assim, manter uma alimentação adequada de forma econômica é de suma importância (CARVALHO *et al.*, 2007). Dentre os ingredientes que compõem a dieta de bovinos leiteiros, os suplementos proteicos são, geralmente, os componentes mais caros. Dessa forma, a utilização de alimentos/ingredientes alternativos que substituam as fontes de proteína comumente utilizadas na alimentação de ruminantes é de grande interesse para a atividade pecuária (GUIMARÃES JÚNIOR *et al.*, 2007).

O uso de nitrogênio não proteico (NNP) como fonte de nitrogênio degradável no rúmen é uma estratégia nutricional bastante comum no Brasil e objetiva a redução dos custos da proteína da dieta, sem alterar a produção de leite. Contudo, a utilização de NNP pode alterar a composição da proteína do leite, influenciando o processamento industrial da matéria-prima, já que os teores de proteína verdadeira e da caseína têm influência direta sobre a fabricação do queijo (AQUINO *et al.*, 2009).

Como ruminante, a vaca leiteira, utiliza o NNP, sendo este transformado rapidamente em amônia com custo energético menor que o despendido para utilização de proteína verdadeira (AQUINO *et al.*, 2009). O consumo excessivo de proteína pode aumentar o custo da ração e ainda afetar o desempenho reprodutivo do animal por elevar sua exigência em energia (BRODERICK *et al.*, 1997). Muitos estudos têm correlacionado a suplementação de proteína na dieta com seu metabolismo (HOJMAN *et al.*, 2004), por meio das concentrações no plasma, sangue e leite, com o objetivo de maximizar o uso de nitrogênio na ração de vacas leiteiras, explorando a utilização de fontes proteicas e seus benefícios sobre a produção, qualidade e processamento do leite.

Alguns autores avaliaram o efeito do uso de ureia, em substituição ao farelo de soja, na dieta de vacas em lactação sobre as características de

produção e composição do leite. Aquino *et al.* (2009) não encontraram efeito significativo de níveis crescentes de inclusão de ureia na dieta, chegando até 1,5 % de ureia na matéria seca ingerida sobre a fração nitrogenada e demais componentes do leite, mostrando ser uma alternativa viável, em associação com cana-de-açúcar, para redução nos custos de produção, sem prejuízos sobre a qualidade do leite. Também ao avaliarem a dieta de vacas em final de lactação, Carmo *et al.* (2005) não observaram efeito significativo do uso de 2 % de ureia na MS da dieta sobre as características de produção e composição do leite.

Dessa maneira, objetivou-se por meio deste trabalho avaliar os efeitos da substituição parcial e total do farelo de soja pela ureia na dieta de vacas F1 (Holândes x Zebu) sobre a composição físico-química e perfil de ácidos graxos do leite.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental da Universidade Estadual de Montes Claros - UNIMONTES, localizada no Município de Janaúba/MG. As análises foram realizadas nos Laboratórios de Análise de Alimentos e de Tecnologia de Produtos de Origem Animal e vegetal da UNIMONTES – *Campus* Janaúba, na Clínica do Leite e no Laboratório de Nutrição Animal da ESALQ-USP – *Campus* Piracicaba.

2.2 Os animais, os tratamentos, o período experimental e o delineamento estatístico

Foram utilizadas 8 vacas F1 Holandês x Zebu, primíparas, com produção média de 10 kg de leite corrigido para 3,5 % de gordura dia⁻¹ e aproximadamente 150 dias ao início do experimento. O delineamento experimental adotado foram dois quadrados latino 4 X 4, composto, cada um, de quatro animais, quatro tratamentos e quatro períodos experimentais. Foram utilizadas 4 dietas experimentais, com níveis crescentes de substituição do farelo de soja pela ureia nos concentrados, 0; 33 %; 66 % e 100 %, que corresponderam a 0; 0,92; 1,84 e 2,77 % de PB na forma de NNP. O experimento teve duração de 72 dias, dividido em quatro períodos de 18 dias, os primeiros 15 dias de cada período foram reservados para adaptação dos animais às dietas e os três últimos dias para coleta de dados, seguindo metodologia descrita por Santos *et al.* (2006).

As dietas foram formuladas conforme o NRC (2001) para vacas com média de 450 kg de peso vivo e produção média de 10 kg de leite corrigido para 3,5 % de gordura dia⁻¹, sendo isoproteicas e foram fornecidas para as vacas duas vezes ao dia, às 08 h e às 16 h.

Os animais foram alimentados com silagem de sorgo. O volumoso foi pesado diariamente em balança digital, distribuído nos cochos misturado com os concentrados de cada tratamento. As sobras do cocho foram pesadas e registradas, as dietas foram ajustadas de acordo com as sobras, mantendo a relação volumoso:concentrado com base na matéria seca (MS) de 80:20, de forma que as sobras representassem 10 % da quantidade fornecida. A proporção dos ingredientes utilizados nas dietas e a composição química das mesmas encontram-se na Tabela 2.

TABELA 2. Proporção de ingredientes e composição química das dietas experimentais (%) na base da matéria seca (%)

Composição em ingredientes (% MS)				
Ingredientes	Níveis crescentes de PB na forma de NNP (%)			
	0	0,92	1,84	2,77
Silagem de sorgo	80	80	80	80
Farelo de soja	6,736	4,49	2,24	0
Milho moído	12,26	14,14	16,02	17,9
Ureia:sulfato de amônio (9:1)	0	0,36	0,73	1,1
Suplemento mineral	1	1	1	1
Composição química				
Matéria Seca (%)	46,72	46,71	46,67	46,05
Matéria Orgânica (%)	93,28	93,31	93,4	93,54
Proteína Bruta (%)	9,84	9,86	9,89	9,92
NIDN (%)	0,45	0,43	0,5	0,48
NIDA (%)	0,025	0,024	0,028	0,027
Extrato Etéreo (%)	1,84	1,85	1,86	1,86
Carboidratos Totais (%)	81,61	81,43	81,25	82,05
Carboidrato não fibroso (%)	27,41	27,03	27,17	27,14
Fibra em detergente neutro (%)	55,97	55,9	55,83	55,77
FDN _{Cp} (%)	54,2	54,4	54,08	54,91
Fibra em detergente ácido (%)	31,75	31,63	31,5	31,37
Lignina (%)	3,17	3,15	3,12	3,10
Nutrientes Digestíveis Totais (%) ²	65,0	65,58	65,18	64,68

NIDN = nitrogênio insolúvel em detergente neutro; NIDA = nitrogênio insolúvel em detergente ácido;

FDN_{Cp} = Fibra em detergente neutro corrigida para cinza e proteína; PB = Proteína Bruta;

NNP = Nitrogênio Não Proteico; NDT = PBD + 2,25 x EED + FDN_{Cp}D + CNF.

2.5 Obtenção do leite

Os animais foram ordenhados em ordenha mecânica, com bezerro ao pé, duas vezes ao dia, às 07h30min e às 15h30min. As amostras de leite de cada animal foram coletadas duas vezes ao dia, nos últimos três dias de cada período, sendo feito um *pool* das amostras do leite da ordenha da manhã e da tarde, proporcionalmente à quantidade produzida de manhã e à tarde. Após a ordenha de cada vaca, o leite foi homogeneizado e coletada uma amostra de 500 mL. Posteriormente, essas amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal da Unimontes - *Campus* de Janaúba e no mesmo dia foram realizadas as análises físico-químicas. As produções de leite corrigidas para 3,5 % de gordura foram calculadas utilizando-se a equação proposta por Sklan *et al.* (1994):

$$\text{PLA } 3,5 \% = \text{PL} \times (0,432 + 0,163 \times \text{TG});$$

Em que:

PLA 3,5 % = Produção de leite ajustada a 3,5 % de gordura

PL = Produção de leite

TG = Teor de gordura do leite

2.3 Análises físico-químicas do leite

Para determinação das características físico-químicas do leite, foram realizadas as seguintes análises, em triplicata: acidez titulável (°D) realizada com uso da solução indicadora de fenolftaleína (0,1 %); pH, utilizando-se peagômetro digital TecnoPON, densidade a 15 °C, pelo termolactodensímetro de Quevenne; teor percentual de gordura, pelo método de Gerber; proteína pelo método kjeldahl com multiplicação do percentual de nitrogênio pelo fator 6,38; cinzas pela incineração na mufla a 550°; e índice crioscópico (°H), utilizando-se crioscópio eletrônico LAKTRON 312-L. A porcentagem de lactose foi calculada pela diferença entre os constituintes sólidos

(proteína, gordura e cinzas). O cálculo do extrato seco total (EST) foi obtido por meio da fórmula $\% ES = 1,2 \times Gd + 2,665 \times (D-1)$, proposta por Fleishmann, e o extrato seco desengordurado (ESD) pela subtração do teor de gordura (BRASIL, 2006).

Ao final de cada período experimental, ou seja, a cada 18 dias, foram coletadas amostras de leite para as análises de ureia, caseína e contagem de células somáticas (CCS). Essas amostras foram acondicionadas em frascos com conservante Bronopol e enviadas para a Clínica do Leite – ESALQ/USP – *Campus* Piracicaba, onde foram realizadas as análises mencionadas anteriormente. O teor de nitrogênio ureico e o percentual de caseína do leite foram determinados pelo método Infravermelho - PO ANA 009 e a Contagem de Células Somáticas (CCS) foi determinada pelo método Citometria de Fluxo - PO ANA 008.

2.4 Perfil de Ácidos Graxos do leite

A determinação do perfil de ácidos graxos foi realizada no Laboratório de Nutrição Animal da ESALQ-USP – *Campus* Piracicaba.

A extração dos ácidos graxos foi realizada conforme descrito por Hara (1978), e a metilação de acordo com a descrição de Christie (1982). As amostras transmetiladas foram analisadas em cromatógrafo a gás modelo *Focus CG-Finnigan*, com detector de ionização de chama, coluna capilar CP-Sil 88 (Varian), com 100 m de comprimento por 0,25 µm de diâmetro interno e 0,20 µm de espessura do filme. Foi utilizado o hidrogênio como gás de arraste, numa vazão de 1,8 ml/min. O programa de temperatura do forno inicial foi de 70 °C, tempo de espera 4 min, 175 °C (13 °C/min) tempo de espera 27 min, 215 °C (4 °C/min) tempo de espera 9 min e, em seguida aumentando 7 °C/min até 230 °C, permanecendo por 5 min, totalizando 65 min. A temperatura do vaporizador foi de 250 °C e a do detector, de 300 °C.

Uma alíquota de 1 µL do extrato esterificado foi injetada no cromatógrafo e a identificação dos ácidos graxos foi feita pela comparação

dos tempos de retenção e as percentagens dos ácidos graxos foram obtidas através do *software – Chromquest 4.1* (Thermo Electron, Italy). Os ácidos graxos foram identificados por comparação dos tempos de retenção dos ésteres metílicos das amostras com padrões de ácidos graxos de manteiga. Os ácidos graxos foram quantificados por normalização das áreas dos ésteres metílicos. Os resultados dos ácidos graxos foram expressos em mg/g de gordura.

2.6 Índices da qualidade nutricional do leite

A qualidade nutricional da fração lipídica foi avaliada pelos dados de composição em ácidos graxos, empregando-se os seguintes cálculos: Índice de Aterogenicidade a) (IA) = $\{(C12:0 + (4 \times C14:0) + C16:0)\} / (\Sigma AGMI + \Sigma \omega 6 + \Sigma \omega 3)$ e Índice de Trombogenicidade (IT) = $(C14:0 + C16:0 + C18:0) / \{(0,5 \times \Sigma AGMI) + (0,5 \times \Sigma \omega 6 + (3 \times \Sigma \omega 3) + (\Sigma \omega 3 / \Sigma \omega 6))\}$, segundo Ulbricht e Southgate (1991); b) razão entre ácidos graxos hipercolesterolêmicos e hipocolesterolêmicos (HH) = $(C14:0 + C16:0) / (\text{monoinsaturado} + \text{poli-insaturado})$ e Ácidos Graxos Desejáveis (AGD) = $(\text{insaturados} + C18:0)$ segundo Costa *et al.* (2008); c) razão entre ácidos graxos poli-insaturados e ácidos graxos saturados é razão entre $\omega 6$ e $\omega 3$ (COSTA *et al.*, 2008).

2.7 Análises Estatísticas

Em função da CCS ser classificada como uma variável quantitativa discreta, resultante de dados de contagem, foi realizada a transformação logarítmica $[\text{Log}(X+1)]$, testou-se através do procedimento GLM (General Linear Models) a aditividade através da análise de covariância dos valores preditos ao quadrado, obtendo-se $P=0,7959$; a normalidade através do

procedimento univariate, com a estatística W (Shapiro-Wilk), com $P=0,2962$ e a homogeneidade de variância pelo teste de Barthett ($P=0,9835$).

Os dados relativos às características físico-químicas, perfil de ácidos graxos e índices nutricionais do leite foram submetidos à análise de variância e, quando o teste de F foi significativo, as médias de tratamentos foram comparadas pelo teste de Dunnett, ao nível de 5 % de probabilidade, com o tratamento-controle.

O efeito dos níveis de ureia foi avaliado por meio de regressão, ao nível de 5 % de probabilidade. A análise foi realizada com o software estatístico SAS (SAS INSTITUTE, 2000), conforme o modelo estatístico a seguir:

$$Y_{k(ij)} = \mu + P_i + A_j + T_{k(ij)} + e_{k(ij)}$$

Em que:

$Y_{k(ij)}$ = Observação referente ao tratamento “k”, dentro do período “i” e animal “j”;

μ = Constante associada a todas as observações;

P_i = Efeito do período “i”, com $i = 1, 2, 3$ e 4 ;

A_j = Efeito do animal “j”, com $j = 1, 2, 3$ e 4 ;

$T_{k(ij)}$ = Efeito do tratamento “k”, dentro do período “i” e animal “j”;

$e_{k(ij)}$ = Erro experimental associado a todas as observações $Y_{k(ij)}$, independente, que por hipótese tem distribuição normal com média zero e variância δ^2 .

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com exceção do nitrogênio ureico no leite (NUL) e das produções de gordura e proteína do leite, todas as variáveis relativas à composição físico-química do leite não foram influenciadas pelo nível de ureia em substituição ao farelo de soja no concentrado das vacas (Tabela 3). Os resultados encontrados sugerem que as exigências nutricionais para a categoria animal estudada foram suficientemente atendidas com a substituição do farelo de soja pela ureia, indicando que a energia proveniente dos carboidratos das dietas foi disponibilizada de forma sincrônica com a liberação do nitrogênio da ureia, apesar do aumento linear do NUL. Dessa forma, pode-se inferir que os microrganismos ruminais foram capazes de aproveitar bem esses compostos, uma vez que os resultados das demais variáveis analisadas foram semelhantes em todos os tratamentos.

Os resultados das análises físico-químicas do leite obtidos no presente trabalho (Tabela 3) estão dentro da faixa de valores recomendados pela Instrução Normativa N° 62 (BRASIL, 2011). Isso indica que o leite obtido de vacas primíparas F1 Holândes x Zebu, alimentadas com dieta contendo níveis crescentes de ureia (NNP) em substituição ao farelo de soja, não apresenta suas características físico-químicas alteradas, portanto não causará prejuízos ao ser processado pelas indústrias de laticínios.

A análise de densidade e o índice crioscópio não foram influenciados pelos níveis crescentes de ureia no concentrado das vacas, uma vez que as médias dos tratamentos foram de 1,031 g/ml e -0,542 °H, respectivamente. Esses resultados encontrados são similares aos valores relatados por Barcelos *et al.* (2007), os quais constataram média de 1,029 g/ml e -0,541 °H ao avaliar a influência da nutrição sobre valor nutricional do leite em vacas girolandas, alimentadas com farelo de soja como principal fonte proteica, com substituição de 1/3 da proteína por nitrogênio não proteico fornecido pela ureia.

TABELA 3. Composição físico-química, equações de regressão (ER) e coeficientes de variação (CV) do leite de vacas F1 (Holandês x Zebu) alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de ureia

Variáveis	Níveis crescentes de PB na forma de NNP (%)				CV (%)	ER
	0	0,92	1,84	2,77		
Densidade a 15° C	1,031	1,031	1,031	1,03	0,29	$\hat{Y} = 1,031$
Índice Crioscópico (°H)	-0,541	-0,542	-0,540	-0,543	-0,96	$\hat{Y} = -0,542$
Gordura (%)	3,47	3,68	3,46	3,48	16,01	$\hat{Y} = 3,52$
Gordura (g/dia)	274,5	276,6*	296,4*	304,1*	13,00	1
Proteína (%)	3,43	3,46	3,36	3,29	6,34	$\hat{Y} = 3,38$
Proteína (g/dia)	266,6	275,2*	278,5*	290,9*	9,85	2
Caseína (%)	2,68	2,71	2,59	2,54	2,79	$\hat{Y} = 2,63$
Caseína (% Proteína)	77,88	78,15	77,19	76,96	1,93	$\hat{Y} = 77,55$
Caseína/Proteína Total	0,76	0,78	0,78	0,78	1,64	$\hat{Y} = 0,78$
Lactose (%)	4,74	4,67	4,72	4,85	3,2	$\hat{Y} = 4,75$
EST (%)	14,14	14,2	13,99	13,97	7,16	$\hat{Y} = 14,07$
ESD (%)	9,15	9,21	9,09	9,03	3,9	$\hat{Y} = 9,12$
Res. Mineral Fixo (%)	0,8	0,79	0,79	0,8	3,85	$\hat{Y} = 0,79$
Nitr. Ureico (mg/dL)	7,14	8,80*	11,04*	11,32*	13,33	3
CCS (x 1000/mL)	146,75	122,75	128,25	161,37	22,1	$\hat{Y} = 139,7$
LCG (kg/dia)	9,97	10,36	9,93	9,92	4,99	$\hat{Y} = 10,05$

Médias seguidas de asteriscos na linha diferem entre se pelo teste de Dunnett a 5 % de significância.

Res. Mineral Fixo = Resíduo Mineral Fixo; Nitr. Ureico = Nitrogênio Ureico; EST = Extrato Seco Total; ESD= Extrato Seco Desengordurado; CCS = Contagem de Células Somáticas; NNP = Nitrogênio Não Proteico; LCG = Produção de Leite corrigido para 3,5 % de Gordura.

1 $Y = 271,47 + 12,056x$ ($R^2 = 0,923$);

2 $Y = 266,53 + 7,931x$ ($R^2 = 0,951$);

3 $Y = 7,515 + 1,527x$ ($R^2 = 0,932$).

O teor de gordura encontrado no leite foi semelhante entre os tratamentos (Tabela 3), entretanto, as vacas produziram leite com elevado teor de gordura, superando o limite mínimo para leite integral (3,0 %). Já a produção de gordura do leite, expressa em g/dia, foi influenciada ($P < 0,05$) pelos níveis crescentes de ureia no concentrado das vacas, apresentando comportamento linear crescente variando de 274,5 a 304,1g/dia.

Da mesma forma que o teor de gordura, o teor de proteína do leite não foi influenciado pela dieta. Já a produção de proteína do leite, expressa em g/dia, foi influenciada ($P < 0,05$) pelos níveis crescentes de ureia no

concentrado das vacas, apresentando comportamento linear crescente variando de 266,6 a 290,9 g/dia. Isso pode estar relacionado com a eficiência ruminal para a síntese de proteína microbiana a partir do nitrogênio amoniacal proveniente da ureia, aumentando a disponibilidade de proteína metabolizável para o animal hospedeiro. Possivelmente, em função da alta relação volumoso:concentrado (80:20) utilizada nas dietas experimentais, as populações de bactérias fermentadoras de carboidratos fibrosos aumentaram, elevando assim a exigência por amônia para síntese de proteína microbiana, já que as mesmas utilizam exclusivamente amônia para próprio crescimento.

No presente estudo, as concentrações de caseína, caseína em porcentagem da proteína bem como a relação caseína/proteína total também não foram influenciadas pelos níveis crescentes de ureia na dieta, apesar do aumento do NUL. Dessa forma, a substituição total do farelo de soja pela ureia não limitou a capacidade de produção desta proteína na glândula mamária. O percentual de caseína no leite é importante, uma vez que a mesma tem influência direta sobre a fabricação do queijo (EMMONS *et al.*, 2003). Assim, é possível substituir toda proteína do farelo de soja, fonte convencional de proteína nas dietas animais, por ureia na dieta de vacas F1 Holandês x Zebu, com produção média de 10 kg de leite corrigido para 3,5 % de gordura dia⁻¹, sem que haja alteração no teor de caseína do leite. Segundo Paixão *et al.* (2006), isso ocorre em virtude da capacidade dos microrganismos do rúmen converter o NNP em proteína de alto valor biológico.

O teor de lactose no leite também não diferiu entre as quatro dietas, o que era previsível, pois a lactose é o componente do leite que menos sofre alteração em decorrência da dieta, tendo em vista seu importante papel osmótico no leite (FONSECA e SANTOS, 2000). Portanto, mudanças na nutrição das vacas leiteiras normalmente não modificam a concentração e produção de lactose, o que, possivelmente, está relacionado a fatores

ambientais. A faixa de variação do teor de lactose (4,6 a 4,85 %) está nos limites esperados para leite de vacas.

Os resultados de extrato seco desengordurado (ESD), resíduo mineral fixo e extrato seco total (EST) obtidos no presente trabalho também não apresentaram diferenças significativas ($P>0,05$) entre os tratamentos. Isso demonstra que a máxima adição de ureia no concentrado não afetou a composição do leite. O teor EST é de extrema importância para a indústria láctea. O valor médio encontrado, no experimento, para EST foi de 14,07 %, valor relativamente superior ao obtido por outros autores como Aquino *et al.* (2009), que avaliaram a substituição do farelo de soja por níveis crescentes de ureia na dieta de vacas leiteiras, e os seus efeitos sobre a composição e o rendimento de fabricação de queijo Minas Frescal com produção de leite variando de 22,36 a 23,38 kg de leite por dia entre os tratamentos; e Saran Netto *et al.* (2011), que estudaram a substituição parcial de farelo de soja por ureia na alimentação de vacas Girolanda em lactação semiconfinadas em pasto de *Brachiaria decumbens* recebendo cana-de-açúcar contendo 1/3 de ureia em substituição ao farelo de soja e produção de leite variando de 7,98 para 9,41 kg de leite por dia entre tratamentos.

Em relação ao nitrogênio ureico no leite (NUL), à medida que se elevaram os níveis de ureia na dieta houve um aumento linear do seu teor, sendo obtidas médias de 7,14; 8,80; 11,04; 11,32 mg/dL com as dietas contendo 0; 0,92; 1,84 e 2,77 % de PB na forma de NNP, respectivamente. Possivelmente, ao passo que se aumentou a ingestão de ureia, houve uma elevação na concentração de amônia ruminal e aumento da passagem desta pela parede do rúmen para o sangue (NRC, 1989), e, conseqüentemente, para o leite. Conforme Roseler *et al.* (1993), a ureia sanguínea apresenta baixo peso molecular e atravessa o epitélio alveolar da glândula mamária difundindo-se no leite.

O aumento significativo nas concentrações de NUL não influenciou o teor de caseína do leite, pois os valores mais elevados encontrados nas dietas com 66 e 100 % de substituição do farelo de soja pela ureia, 11,04;

11,32 mg/dL, respectivamente, estão entre os valores esperados que é de 10-16mg/dL preconizados para vacas em lactação (GAONA, 2002). Isso indica que em até 100 % de substituição do farelo de soja por ureia, nas condições do presente trabalho, não houve excreção de excesso de ureia no leite.

A contagem de células somáticas (CCS) foi utilizada no presente estudo para monitorar a ocorrência de mastite subclínica das vacas estudadas, o que poderia influenciar a produção e composição do leite. A CCS foi menor que 200.000 células/mL em todos os tratamentos e não diferiu entre os tratamentos.

Verdi *et al.* (1987), avaliando a composição do leite de vários rebanhos por um período de 2 anos, observaram que a relação caseína/proteína total foi de 1 a 2 % menor para o leite com alta CCS. Tal redução na síntese de caseína no leite com alta CCS pode ser explicada pela redução da capacidade de síntese e secreção de caseína em consequência do dano causado por toxinas bacterianas ao epitélio secretor. Paape *et al.* (1995) citaram que devido à ação das mesmas toxinas bacterianas, há o aumento na concentração de proteínas séricas no leite durante a mastite, estando aumentadas, principalmente, as concentrações de albumina sérica e imunoglobulinas dos quartos infectados. Mesmo que existam controvérsias sobre o efeito da CCS sobre a concentração da caseína, pode se afirmar que à medida que a CCS se eleva no leite, a relação caseína/proteína total diminui (KELI *et al.*, 1998).

O conhecimento da composição química, particularmente com relação à composição de ácidos graxos no conteúdo lipídico do leite, vem despertando grande interesse pela comunidade científica mundial, pois está relacionada diretamente à saúde humana. Além disso, pode oferecer subsídios para avaliar a qualidade nutricional lipídica em função dos teores de ácidos graxos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) e poli-insaturados (AGPI), bem como o percentual de ácidos graxos ômega 3 e ômega 6.

A tabela 4 mostra a concentração de ácidos graxos nos lipídios totais do leite de vacas F1 (Holandês x Zebu) e não foram observadas diferenças significativas nessa composição em função da substituição do farelo de soja pela ureia na dieta das vacas.

TABELA 4. Concentração de ácidos graxos do leite de vacas F1 (Holandês x Zebu) alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de ureia

Componentes	Níveis crescentes de PB na forma de NNP (%)				CV (%)	Ŷ
	0	0,92	1,84	2,77		
	mg/g de gordura					
Saturados	75,36	73,95	75,68	75,7	3,06	75,17
C4:0	2,74	2,74	2,75	2,92	5,44	2,79
C6:0	2,11	2,08	2,13	2,28	7,8	2,15
C8:0	1,23	1,22	1,2	1,33	10,7	1,28
C10:0	2,87	2,74	2,87	2,2	17,52	2,92
C12:0	3,73	3,59	3,85	4,28	16,46	3,86
C14:0	12,23	12,21	12,35	13,54	7,72	12,58
C15:0	0,94	1,04	1,12	0,94	24,08	1,01
C16:0	38,68	37,36	38,53	36,03	7,19	37,65
C17:0	0,55	0,57	0,56	0,58	5,48	0,56
C18:0	8,64	8,47	8,35	8,5	8,43	8,49
C24:0	0,07	0,07	0,06	0,07	28,46	0,07
Monoinsaturados	21,96	23,42	21,85	21,95	9,3	22,29
C16:1 C9	1,89	1,97	2,00	1,94	10,43	1,95
C18:1 T10-T11-T12	0,68	0,68	0,68	0,68	0,00	0,68
C18:1 C9	15,59	16,82	15,41	15,55	10,57	15,84
C18:1 C11	1,14	1,27	1,15	1,09	17,04	1,16
Poli-insaturados	2,26	2,27	2,01	1,95	11,55	2,13
C18:2 C9 C12	1,28	1,29	1,17	1,09	11,67	1,21
C18:3w3	0,39	0,43	0,37	0,37	14,41	0,39
C18:2 C9 T11(CLA)	0,27	0,3	0,25	0,27	19,17	0,28

CLA = Ácido linoleico conjugado.

O total de ácidos graxos saturados (AGS) foi de 75,17 %, sendo que os maiores percentuais foram encontrados para os ácidos palmítico (C16:0) 37,65 % e o ácido mirístico (C14:0) 12,58 %. Consoante Dietschy (1998), esses ácidos graxos são considerados hipercolesterolêmicos, devido ao fato destes isômeros demonstrarem menor ação sobre a atividade dos receptores

hepáticos para a lipoproteína de baixa densidade (LDL), ou o mau colesterol, aumentando assim a LDL circulante no plasma sanguíneo. Dessa forma, uma quantidade elevada de colesterol no organismo pode levar a doenças cardíacas, doença de Alzheimer e câncer entre outros.

Outro ácido graxo saturado com relevante participação na gordura do leite foi o esteárico (C18:0) com 8,49 %. Embora este isômero apresente participação relevante na gordura do leite, ele é considerado neutro quanto a sua ação sobre as LDL circulantes (DIETSCHY, 1998).

Dentre os ácidos graxos monoinsaturados (AGMI), o ácido predominante foi o oleico (C18:1 C9) apresentando percentual de 15,84 % e o total de AGMI de 22,29 %. O oleico (C18:1 C9) também é considerado na literatura científica como hipocolesterolêmico (DIETSCHY, 1998).

A tabela 4 também mostra que o valor médio do ácido linoleico (C18:2 C9 C12), foi de 1,21 % sendo este o ácido graxo poli-insaturado (AGPI) predominante, enquanto o total de AGPI encontrado foi 2,13 %. De acordo com Parodi (1999), elevar a concentração de ácidos graxos insaturados é de grande importância, uma vez que esses são precursores da síntese endógena de CLA *cis-9 trans-11* C18:2, que tem propriedades anticancerígenas, além de outras benéficas à saúde humana, como a redução de risco de doenças coronarianas e aterosclerose e diminuição da incidência de tumores mamários.

No presente estudo, o isômero do CLA que prevaleceu foi o C18:2 *cis-9, trans-11*. Este resultado é muito importante porque o aumento do isômero C18:2 *cis-9, trans-11*, melhora as propriedades nutracêuticas do leite.

A tabela 5 apresenta os índices que indicam a qualidade nutricional do perfil lipídico relacionada com a saúde humana encontrados no leite obtido de vacas F1 Holandês x Zebu. Como pode ser verificado, não houve influência da substituição do farelo de soja pela ureia na dieta das vacas sobre estes índices.

TABELA 5. Índice de aterogenicidade, índice de trombogenicidade, relação Hiper/Hipocolesterolêmicos, ácidos graxos desejáveis, relação de ácidos graxos poli-insaturados/ácidos graxos saturados e relação ômega6/ômega3 do leite de vacas F1 (Holandês x Zebu) alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de ureia

Variáveis	Níveis crescentes de PB na forma de NNP (%)				CV (%)	Ŷ
	0	0,92	1,84	2,77		
Índice de Aterogenicidade	4,18	3,77	4,16	4,27	14,24	4,1
Índice de Trombogenicidade	5,38	4,81	5,31	5,19	12,58	5,17
Hiper/Hipocolesterol	2,16	1,94	2,15	2,1	13,87	2,09
AG desejáveis	32,79	34,16	32,21	32,44	7,77	32,9
AGPI/AGS	0,03	0,03	0,03	0,03	13,54	0,03
Ω6/Ω3	16,95	17,76	16,04	14,25	30,69	16,25

AGPI/AGS = Razões entre ácidos graxos poli-insaturados/saturados e Ω6/Ω3 = Razões entre Ômega-6/Ômega-3.

No presente estudo, o Índice de Aterogenicidade (IA) e o Índice Trombogenicidade (IT) encontrados no leite foram em média 4,10 e 5,17. Não há valores recomendados para os IA e IT em produtos lácteos, portanto, considera-se que quanto menor for o valor desses índices, mais favorável é o perfil de ácido graxo à saúde humana (SOUSA BENTES *et al.*, 2009). Pois, de acordo com Turan *et al.* (2007), os IA e IT indicam o potencial de estímulo à agregação plaquetária, ou seja, quanto menores os valores de IA e IT, maior é quantidade de ácidos graxos antiaterogênicos presentes em determinado óleo/gordura e, conseqüentemente, maior é o potencial de prevenção ao aparecimento de doenças coronarianas.

A relação Hiper/Hipocolesterol (HH) constitui um índice que considera a atividade funcional dos ácidos graxos no metabolismo das lipoproteínas de transporte do colesterol plasmático, cujo tipo e quantidade estão relacionados com o maior ou menor risco de incidência de doenças cardiovasculares. Na literatura não há valores recomendados para o índice HH em relação aos produtos lácteos, porém, considera-se como referência o valor 2,0 atribuído aos produtos cárneos (SANTOS-SILVA *et al.*, 2002). Valores inferiores a 2,0 correspondem a produtos com composição de ácidos graxos desejável no aspecto nutricional, pois são compostos, em sua maior

parte, de ácidos graxos hipocolesterolêmicos e, conseqüentemente, reduzem o risco de doenças cardiovasculares (ASSUNÇÃO, 2007). O índice relacionado às razões entre HH encontrado no presente trabalho resultou em valor médio de 2,09, mostrando que o leite obtido de vacas F1 (Holandês x Zebu) alimentadas com níveis crescentes de ureia apresenta uma composição de ácidos graxos muito próxima do valor desejável.

A razão AGPI/AGS abaixo de 0,45 tem sido considerada como indesejável na dieta (DEPARTMENT OF HEALTH AND SOCIAL SECURITY, 1994) por sua potencialidade na indução do aumento de colesterol sanguíneo. O valor médio encontrado para essa variável no presente trabalho foi de 0,03 ficando abaixo dos valores desejados.

A relação G6/G3 encontrada no presente estudo foi em média 16,25, resultados potencialmente superior às quantidades desejáveis, uma vez que considerando a razão G6/G3, a literatura indica que valores abaixo de 4,0 sugerem quantidades desejáveis na dieta para a prevenção de riscos cardiovasculares (DEPARTMENT OF HEALTH AND SOCIAL SECURITY, 1994).

4 CONCLUSÃO

A substituição total do farelo de soja pela ureia na dieta de vacas F1 Holandês x Zebu, com produção de até 10 kg de leite corrigido para 3,5 % de gordura dia⁻¹, não altera composição físico-química nem o perfil de ácidos graxos do leite.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, A. C. R. *et al.* Consumo, produção e composição do leite e do queijo de vacas alimentadas com níveis crescentes de ureia. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 1, p. 37-42, 2013.

AQUINO, A. A. *et al.* Efeito de níveis crescentes de uréia na dieta de vacas leiteiras sobre a composição e rendimento de fabricação de queijos minas frescal. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. São Paulo, v. 46, n. 4, p. 273-279, 2009.

ASSUNÇÃO, J. M. P. **Contribuição para o estudo da composição lipídica e do valor nutricional de leites e produtos lácteos dos açores**. 2007. 113 f. (Dissertação de mestrado em controle da qualidade e toxicologia dos alimentos), Universidade de Lisboa, Lisboa, 2007.

BARCELOS, B. *et al.* Avaliar a influencia da nutrição sobre o valor nutricional do leite em vacas girolandas. In: Seminário de produção científica docente e discente das faculdades de ananguera. 1, 2007, Ananguera. **Anais...** Ananguera-SP, 2007.

BARROS, L. Transtornos metabólicos que podem ser detectados por meio do leite. In: **Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluídos corporais**. CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 29, 2002, Gramado. **Anais...** Gramado, RS; 2002. p. 27.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos. **Instrução Normativa nº. 22** de 14 de dezembro de 2006. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2006. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 18 fev. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos para Controle de leite e Produtos Lácteos. **Instrução Normativa nº 62**, de 29 de dezembro de 2011. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 18 fev. 2014.

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

CARMO, C. A.; SANTOS, F. A. P.; IMAIZUMI, H. Substituição do farelo de soja por uréia ou amireia para vacas em final de lactação. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 27, p. 277-286, 2005.

CARVALHO, L. A ; NOVAES, L. P.; MARTINS, C. E. **Sistema de produção de leite** (periódico online) 2007. Disponível em: FontesHTML/LeiteCerrado/index.htm. Acesso em: 11 abr. 2012.

COSTA, R. G. *et al.* Características químicas e sensoriais do leite de cabras Moxotó alimentadas com silagem de maniçoba. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa-MG, v. 37, n. 4, p. 694-702, 2008.

CHRISTIE, W.W. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesterol esters. **Journal of Lipid Research**, New York, v. 23, p. 1072-1075 1982.

DEPARTMENT OF HEALTH AND SOCIAL SECURITY. Nutritional aspects and cardiovascular disease: report on health and social subjects. **HMSO**, London, n. 46, p. 1-178, 1994.

DIETSCHY, J. M. Dietary fatty acids and the regulation of plasma low density lipoprotein cholesterol. **Journal Nutrition**, Gainesville, v. 2, n. 128, p. 444-448, 1998.

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

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 176 p.

GAONA, R. C. Alguns indicadores metabólicos no leite para avaliar a relação nutrição: fertilidade. In: CONGRESSO NACIONAL DE

MEDICINA VETERINÁRIA, 29, 2002, Gramado-RS. **Anais...** Gramado: Conbravet, 2000. p. 40-48

GUIMARÃES JUNIOR, R. *et al.* **Ureia na alimentação de vacas leiteiras.** Planaltina-DF.: Embrapa Cerrados, 2007, 33 p.

HARA, A.; RADIN, N. S. Lipid extraction of tissues with low toxicity solvent. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 90, p. 420-426, 1978.

HOJMAN, D. relationships between milk urea and production, nutrition and fertility traits in Israeli dairy HERDS. **Journal of Dairy Science.** Champaign, v. 87, p. 1001-1011. 2004.

KELI, L. *et al.* Effects of milk somatic cell count on Cottage cheese yield and quality. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 5, p. 1205-1213, 1998.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL-NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle.** 7th ed. Washinton; 2001. 381 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL-NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle.** 6th rev. ed, Natl. Acad. Press, Washington, DC, 1989.

PAAPE, M. J. The leukocyte as a defense mechanism. **Journal of the American Medical Associaton**, Chicago, v. 170, n. 10, p. 1214-1223, 1977.

PAIXÃO, M. P. *et al et al.* Uréia em dietas para bovinos: consumo, digestibilidade aparente, ganho de peso, característica da carcaça e produção microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa-MG, v. 35, n. 6, p. 2451-2460, 2006.

PARODI, W. P. Conjugated Linoleic Acid and Other Anticarcinogenic Agents of Bovine Milk Fat. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 82, p. 1339-1349, 1999.

ROSELER, D. K. *et al.* Dietary protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk nonprotein nitrogen in Holstein cows. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 76, n. 2, p. 525-534, 1993.

SANTOS-SILVA, J.; BESSA, R. J. B.; SANTOS-SILVA, F. Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs: Fatty and composition of meat. **Livestock Production Science**, New York, v. 77, n. 2, p. 187-194, 2002.

SARAN NETTO, A.; BARCELOS, B.; CONTI, R. M. C. Substituição parcial de farelo de soja por uréia na alimentação de vacas Girolanda em lactação. **Journal of the Health Sciences Institute**. Pirassununga, SP, v. 29, n. 2, p. 139-142, 2011.

SAS INSTITUTE. SAS/STAT User's guide. Version 8. Cary, NC, 2000.

SKLAN, D. R. *et al.* Fatty acids, calcium soaps of fatty acids, and cottonseeds fed to high yielding cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, n. 9, p. 2463-2472, 1992.

SOUSA BENTES, A. *et al.* Caracterização física e química e perfil lipídico de três espécies de peixes amazônicos. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Paraná, v. 3, n. 2, p. 97-108, 2009.

TURAN, H.; SÖNMEZ, G.; KAYA, Y. Fatty acid profile and proximate composition of the thornback ray (*Raja clavata*, L. 1758) from the Sinop coast in the Black Sea. **Journal. Fish. Science**, Ottawa, v. 1. n. 2, p. 97-103, 2007.

ULBRICH, T. L. V.; SOUTHGATE, D. T. A. Coronary heart disease: seven dietary factors. **Lancet**, London, v. 338, n. 19, p. 985-992, 1991.

VERDI, R. J., D. M. *et al.* Variability in true protein, casein, nonprotein nitrogen, and proteolysis in high and low somatic cell milks. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v. 70, p. 230-242, 1987.

CAPÍTULO II

RENDIMENTO, CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E SENSORIAL DO QUEIJO MINAS FRESCAL OBTIDO DO LEITE DE VACAS F1 (HOLÂNDES X ZEBU) ALIMENTADAS COM NÍVEIS CRESCENTES DE UREIA

RESUMO

SOUZA, Vanice Mendes de. Rendimento, características físico-químicas e sensorial do queijo Minas frescal obtido do leite de vacas F1 Holândes x Zebu alimentadas com níveis crescentes de ureia. 2014. Cap. II p. 45-73 Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG³.

Objetivou-se por meio deste trabalho avaliar o rendimento, as características físico-químicas e sensorial do queijo Minas frescal obtido do leite de vacas F1 (Holândes x Zebu) alimentadas com níveis crescentes de ureia (0; 33%; 66% e 100%, que corresponderam a 0, 0,92, 1,84 e 2,77% de PB na forma de NNP), em substituição ao farelo de soja. O experimento foi realizado na Fazenda Experimental da Unimontes, localizada em Janaúba-MG. Foram utilizadas oito vacas F1 Holandês x Zebu, primíparas, com aproximadamente 150 dias de lactação ao início do experimento e produção média de 10 kg de leite corrigido para 3,5 % de gordura dia⁻¹, em dois quadrados latinos 4 x 4 (4 animais, 4 dietas, 4 períodos). Os períodos foram de dezoito dias, sendo quinze dias de adaptação e três dias de coletas de dados. As amostras de leite de cada vaca, da ordenha da manhã e da tarde, foram coletadas e analisadas quanto à composição físico-química. No terceiro dia de coleta, o leite obtido de cada tratamento foi resfriado para processamento do queijo Minas frescal, que após ser processado foi pesado para determinar o rendimento, e analisado quanto a textura e as características físico-químicas (gordura, proteína, ácido láctico, umidade, pH, Aw, sólidos totais e resíduo mineral fixo) e submetidos as análises microbiológicas para o teste de aceitação pelo consumidor e perfil de ácidos graxos. Quanto às características de textura, rendimento, composição físico-química, análise sensorial e perfil de ácidos graxos do queijo Minas frescal não houve diferença significativa. Dessa forma, conclui-se que a ureia pode ser utilizada em substituição total ao farelo de soja para vacas F1 Holandês x Zebu, com produção de até 10 kg de leite corrigido para 3,5% de gordura dia⁻¹, sem alterar rendimento, composição físico-química, consumo e perfil de ácidos graxos do queijo Minas frescal.

Palavras-Chave: composição físico-química, farelo de soja, nitrogênio não proteico, queijo Minas frescal.

³ **Comitê Orientador:** Prof. Vicente Ribeiro Rocha Júnior – DCA/UNIMONTES (orientador); Prof. José Reinaldo Mendes Ruas – DCA/UNIMONTES (coorientador).

ABSTRACT

SOUZA, Vanice Mendes. Yield, physical and chemical and sensory characteristics of frescal cheese obtained from milk of F1 Holstein x Zebu cows fed increasing levels of urea. 2014. Chapter II. 45-73 p. Dissertation (Master in Animal Science) – Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG.⁴

This work aimed at evaluating the yield, physical and chemical and sensory characteristics of Minas fresh cheese obtained from milk of F1 cows (Holstein x Zebu) fed increasing levels of urea (0; 33 %; 66 % and 100 %, corresponding to 0; 0.92; 1.84 and 2.77 % CP as NNP), replacing soybean meal. The experiment was conducted at the Experimental Farm of Unimontes located in Janaúba-MG. Eight primiparous F1 Holstein x Zebu cows were used, with approximately 150 days of lactation and average production of 10 kg of milk corrected to 3.5 % fat day⁻¹, in two 4 x 4 Latin square (4 animals, 4 diets, 4 periods). Periods were of eighteen days, fifteen days of adaptation and three days of data collection. Milk samples from each cow, from morning and afternoon milking, were collected and analyzed for physical -chemical composition. On the third day of collection, the milk obtained from each treatment was cold for processing of Minas fresh cheese, which after being processed it was weighed to determine the yield, and analyzed as for texture and physical-chemical characteristics (fat, protein, lactic acid, moisture, pH, Aw, total solids and fixed mineral residue) and subjected to microbiological analyzes to test consumer acceptance and fatty acid profile. Regarding the characteristics of texture, yield, physical and chemical composition, sensory analysis and the Minas fresh cheese fatty acid profile, there was no significant difference. Thus, it is concluded that the urea can be used in total replacement of soybean meal for F1 Holstein x Zebu cows, producing up to 10 kg milk corrected to 3.5% of fat day⁻¹, without altering yield, physical and chemical composition, consumption and fatty acids profile of Minas fresh cheese.

Key words: physical and chemical composition, soybean meal, non-protein nitrogen, Minas fresh cheese.

⁴ **Guidance Committee:** Prof. Vicente Ribeiro Rocha Júnior – ASD/UNIMONTES (Adviser); Prof. José Reinaldo Mendes Ruas – ASD/UNIMONTES (co-adviser)

1 INTRODUÇÃO

O queijo Minas frescal é o terceiro queijo mais produzido no Brasil e seu processamento pode ser uma alternativa para aumentar a renda do produtor quando o preço do leite pago pela indústria não permite a obtenção de lucro ou mesmo quando não cobre os custos de produção. Além disso, o processamento do queijo é simples, não requer grandes investimentos em equipamentos e, quando realizado com qualidade, agrega valor ao produto (AQUINO *et al.*, 2009).

O atual enfoque de mercado dos produtos de origem animal tem sido direcionado à busca de alimentos com menores teores de gordura e atributos funcionais (SILVA *et al.*, 2007). A alimentação da vaca pode influenciar no valor nutritivo do leite e dos derivados lácteos, como o queijo, uma vez que alimentos saudáveis são cada vez mais procurados pelos consumidores (FERNANDES *et al.*, 2008).

O queijo Minas frescal é um derivado do leite, que contém em sua composição mais de 20 % de gordura, e uma das características do leite bovino é a grande quantidade de ácidos graxos saturados provenientes da síntese *de novo* que ocorre na glândula mamária. Consequentemente, a imagem nutricional da gordura do leite tem sofrido um impacto negativo nas últimas décadas, uma vez que esses ácidos graxos têm sido associados à elevação dos níveis de colesterol e ao risco de doenças cardíacas (FERNANDES *et al.*, 2008). Assim, manipular a gordura do leite visa atender à demanda do mercado consumidor, cada vez mais exigente em relação ao consumo de determinadas gorduras saturadas, em razão de seus efeitos nocivos à saúde humana (EIFERT *et al.*, 2006).

Dentre os fatores que influenciam na qualidade do queijo, as características físico-químicas e de composição da matéria-prima merecem destaque (O'CONNOR e O'BRIEN, 2000) e, essas por sua vez, são grandemente influenciadas pela nutrição da vaca. Cerca de 50 % das

variações de gordura e proteína do leite podem ser afetados pela alimentação e, dentre os fatores que interferem nas concentrações de proteína, o uso de fontes de nitrogênio não proteico, tal como a ureia, precisa ser considerado.

O uso de nitrogênio não proteico, como a ureia, como fonte de nitrogênio degradável no rúmen, em substituição parcial ao farelo de soja, é uma estratégia nutricional bastante comum no Brasil e visa à redução de custos de dieta, da produção total de leite e da proteína total do leite. No entanto, a elevação da proteína total do leite pode não apresentar vantagens em termos de rendimento industrial na fabricação do queijo, visto que o maior rendimento deste derivado lácteo depende da maior concentração de caseína do leite (BLOCK, 2000).

Dessa forma, objetivou-se por meio deste estudo avaliar o rendimento, as características físico-químicas e sensorial do queijo Minas frescal obtido do leite de vacas F1 Holândes x Zebu alimentadas com níveis crescentes de ureia em substituição parcial e total ao farelo de soja.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental da Universidade Estadual de Montes Claros - UNIMONTES, localizada no Município de Janaúba/MG. As análises foram realizadas nos Laboratórios de Análise de Alimentos e de Tecnologia de Produtos de Origem Animal e vegetal da UNIMONTES – *Campus* Janaúba, no Laboratório de Nutrição Animal da ESALQ-USP – *Campus* Piracicaba e na Clínica do Leite - ESALQ-USP – *Campus* Piracicaba.

2.2 Os animais, os tratamentos, o período experimental e o delineamento estatístico

Foram utilizadas 8 vacas F1 (Holandês x Zebu), primíparas, com produção média de 10 kg de leite/dia e com aproximadamente 150 dias ao início do experimento de lactação. O delineamento experimental adotado foram dois quadrados latinos 4 X 4, compostos, cada um, de quatro animais, quatro tratamentos e quatro períodos experimentais. Foram utilizadas 4 dietas experimentais, com níveis crescentes de substituição do farelo de soja pela ureia nos concentrados, 0; 33 %; 66 % e 100 %, que corresponderam a 0, 0,92, 1,84 e 2,77 % de PB na forma de NNP. O experimento teve duração de 72 dias, sendo dividido em quatro períodos de 18 dias dos quais os primeiros 15 de cada período foram reservados para adaptação dos animais às dietas e os três últimos dias para coleta de dados, seguindo metodologia descrita por Santos *et al.* (2006).

As dietas foram formuladas conforme o NRC (2001) para vacas com média de 450 kg de peso vivo e produção de 10 kg de leite corrigido para 3,5 % de gordura dia⁻¹, sendo isoproteicas, as quais foram fornecidas para as

vacas duas vezes por dia, às 08 h e às 16 h. Os animais foram alimentados com silagem de sorgo. Este volumoso era pesado diariamente em balança digital, colocado nos respectivos cochos e misturados com os concentrados de cada tratamento. As sobras do cocho foram pesadas e registradas, as dietas foram ajustadas de acordo com as sobras, mantendo a relação volumoso:concentrado com base na Matéria Seca (MS) de 80:20, de forma que as sobras representassem 10 % da quantidade fornecida. A proporção dos ingredientes utilizados nas dietas e a composição química das mesmas encontram-se na Tabela 6.

TABELA 6. Proporção de ingredientes e composição química das dietas experimentais (%), na base da matéria seca (%)

Composição em ingredientes (%MS)				
Ingredientes	Níveis crescentes de PB na forma de NNP (%)			
	0	0,92	1,84	2,77
Silagem de sorgo	80	80	80	80
Farelo de soja	6,736	4,49	2,24	0
Milho moído	12,26	14,14	16,02	17,9
Ureia:sulfato de amônio (9:1)	0	0,36	0,73	1,1
Suplemento mineral	1	1	1	1
Composição química				
Matéria Seca (%)	46,72	46,71	46,67	46,05
Matéria Orgânica (%)	93,28	93,31	93,4	93,54
Proteína Bruta (%)	9,84	9,86	9,89	9,92
NIDN (%)	0,45	0,43	0,5	0,48
NIDA (%)	0,025	0,024	0,028	0,027
Extrato Etéreo (%)	1,84	1,85	1,86	1,86
Carboidratos Totais (%)	81,61	81,43	81,25	82,05
Carboidrato não fibroso (%)	27,41	27,03	27,17	27,14
Fibra em detergente neutro (%)	55,97	55,9	55,83	55,77
FDN _{CP} (%)	54,2	54,4	54,08	54,91
Fibra em detergente ácido (%)	31,75	31,63	31,5	31,37
Lignina (%)	3,17	3,15	3,12	3,10
Nutrientes Digestíveis Totais (%) ²	65,0	65,58	65,18	64,68

NIDN = nitrogênio insolúvel em detergente neutro; NIDA = nitrogênio insolúvel em detergente ácido; FDN_{CP} = Fibra em detergente neutro corrigida para cinza e proteína; PB = Proteína Bruta; NNP = Nitrogênio Não Proteico; NDT = PBD + 2,25 x EED + FDN_{CP}D + CNF.

2.3 Obtenção do leite

Os animais foram ordenhados em ordenhas mecânica, com bezerro ao pé, duas vezes por dia, às 07 h 30 min. e às 15 h 30 min. As amostras de leite de cada animal foram coletadas duas vezes ao dia, nos últimos três dias de cada período, sendo feito um *pool* das amostras do leite da ordenha da manhã e da tarde, proporcionalmente à quantidade produzida de manhã e à tarde. Após a ordenha de cada vaca, o leite foi homogeneizado e coletada uma amostra de 500 mL, posteriormente essas amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal e Vegetal da Unimontes - *Campus* de Janaúba e no mesmo dia foram realizadas as análises físico-químicas.

2.4 Análises físico-químicas do leite

Para determinação das características físico-químicas do leite, foram realizadas as seguintes análises, em triplicata: acidez titulável (°D) realizada com uso da solução indicadora de fenolftaleína (0,1 %); pH, utilizando-se peagômetro digital TecnoPON, densidade a 15 °C, pelo termolactodensímetro de Quevenne; teor percentual de gordura, pelo método de Gerber; proteína pelo método kjeldahl com multiplicação do percentual de nitrogênio pelo fator 6,38; cinzas pela incineração na mufla a 550°; e índice crioscópico (°H), usando-se crioscópio eletrônico LAKTRON 312-L. A porcentagem de lactose foi calculada pela diferença entre os constituintes sólidos (proteína, gordura e cinzas). O cálculo do extrato seco total (EST) foi obtido por meio da fórmula $\% ES = 1,2 \times Gd + 2,665 \times (D-1)$, proposta por Fleishmann, e o extrato seco desengordurado (ESD) pela subtração do teor de gordura (BRASIL, 2006) (Tabela 7).

TABELA 7. Composição físico-química do leite utilizado para o processamento do queijo Minas Frescal

Variáveis	Níveis crescentes de PB na forma de NNP (%)			
	0	0,92	1,84	2,77
Densidade a 15° C	1,031	1,031	1,031	1,03
Índice Crioscópico (°H)	-0,541	-0,542	-0,540	-0,543
Gordura (%)	3,47	3,68	3,46	3,48
Gordura (g/dia)	274,49	276,64	296,44	304,98
Proteína (%)	3,43	3,46	3,36	3,29
Proteína (g/dia)	266,63	275,23	278,05	290,08
Caseína (%)	2,68	2,71	2,59	2,54
Caseína (% Proteína)	77,88	78,15	77,19	76,96
Caseína/Proteína Total	0,76	0,78	0,78	0,78
Lactose (%)	4,74	4,67	4,72	4,85
EST (%)	14,14	14,2	13,99	13,97
ESD (%)	9,15	9,21	9,09	9,03
Resíduo Mineral Fixo (%)	0,8	0,79	0,79	0,8
Nitrogênio Ureico (mg/dL)	7,14	8,80	11,04	11,32
CCS (x mil/mL)	146,75	122,75	128,25	161,37
LCG (kg/dia)	9,97	10,36	9,93	9,92

EST= Extrato Seco Total; ESD= Extrato Seco Desengordurado; CCS = Contagem de Células Somáticas; NNP = Nitrogênio Não Proteico;

2.5 Processamento do queijo Minas frescal

O queijo Minas frescal foi processado no Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal e Vegetal da UNIMONTES – *Campus Janaúba*. O leite de cada dieta experimental, separadamente, foi pesado, filtrado e submetido à pasteurização lenta (65 °C por 30 minutos). Após este tratamento térmico, o leite foi resfriado a 39 °C, temperatura em que foi adicionado o cloreto de cálcio (40 mL/100L) e o coalho (30 mL/100L), sendo este diluído em parte igual de água filtrada. Após um tempo de 40 a 60 minutos ocorreu à coagulação do leite, em seguida foi realizado o corte da massa com uma faca inox em cubos de 1,5 a 2 cm, intercalando a mexedura e o repouso para promover a dessoragem, seguida da drenagem do soro, a massa foi colocada em formas plásticas e procedeu-se a salga

(700g/100L de sal branco refinado). Os queijos foram resfriados numa temperatura de 4 °C por aproximadamente 12 horas, no dia seguinte foram retirados das formas, embalados, pesados em balança digital para determinação do rendimento e reservados para posteriores análises de textura, físico-químicas, microbiológicas e sensorial.

2.6 Textura, Rendimento e Análises físico-químicas do queijo

A textura das amostras de queijo foi determinada utilizando-se um Texturômetro – Modelo TAXT da Stabic Micro Systems, com auxílio de um Software, fornecendo diretamente a força de corte (Kg). Foi utilizada uma célula do tipo Probe Warner Bratzler.

O rendimento bruto dos queijos foi calculado segundo a equação (ANDREATTA *et al.*, 2009): Rendimento bruto (kg/kg) = peso da formulação (leite mais os ingredientes) (kg)/massa de queijo após embalagem (kg). O rendimento ajustado para o teor de umidade do queijo (LUCEY e KELLY, 1994) foi calculado considerando um valor de 57 % como referência para a umidade do queijo minas frescal, conforme a equação sugerida por Oliveira (1986): REAJ (kg/kg) = Rendimento bruto x (100 - % umidade atual)/57.

Para determinação das características físico-químicas do queijo, foram realizadas as seguintes análises, em triplicata: acidez titulável (°D) realizada com uso da solução indicadora de fenolftaleína (0,1%); pH, utilizando-se peagômetro digital TecnoPON; teor percentual de gordura, pelo método de Gerber; proteína pelo método kjeldahl; resíduo mineral fixo, pela eliminação da matéria orgânica à temperatura de 550 °C, sólidos totais através da evaporação de água da amostra com utilização da estufa a 105 °C, umidade foi determinada pela subtração dos sólidos totais e atividade de água (Aw) por meio de medidor de Aw modelo Aqua Lab.

2.7 Perfil de Ácidos Graxos do queijo

A extração dos ácidos graxos foi feita conforme descrito por Hara (1978), e a metilação de acordo com a descrição de Christie (1982). As amostras transmetiladas foram analisadas em cromatógrafo a gás modelo *Focus CG-Finnigan*, com detector de ionização de chama, coluna capilar CP-Sil 88 (Varian), com 100 m de comprimento por 0,25 µm de diâmetro interno e 0,20 µm de espessura do filme. Foi utilizado o hidrogênio como gás de arraste, numa vazão de 1,8 ml/min. O programa de temperatura do forno inicial foi de 70 °C, tempo de espera 4 min, 175 °C (13 °C/min) tempo de espera 27 min, 215 °C (4 °C/min) tempo de espera 9 min e, em seguida aumentando 7 °C/min até 230 °C, permanecendo por 5 min, totalizando-se 65 min. A temperatura do vaporizador foi de 250 °C e a do detector, de 300 °C.

Uma alíquota de 1 µL do extrato esterificado foi injetada no cromatógrafo e a identificação dos ácidos graxos foi feita pela comparação dos tempos de retenção, e as percentagens dos ácidos graxos foram obtidas através do *software – Chromquest 4.1* (Thermo Electron, Italy).

Os ácidos graxos foram identificados por comparação dos tempos de retenção dos ésteres metílicos das amostras com padrões de ácidos graxos de manteiga. Os ácidos graxos foram quantificados por normalização das áreas dos ésteres metílicos. Os resultados dos ácidos graxos foram expressos em mg/g de gordura.

2.8 Índices da qualidade nutricional do queijo Minas frescal

A qualidade nutricional da fração lipídica foi avaliada pelos dados de composição em ácidos graxos, empregando-se os seguintes cálculos: Índice de Aterogenicidade a) (IA) = $\{(C12:0 + (4 \times C14:0) + C16:0)\} / (\Sigma AGMI + \Sigma \omega 6 + \Sigma \omega 3)$ e Índice de Trombogenicidade (IT) = $(C14:0 + C16:0 + C18:0) / \{(0,5 \times \Sigma AGMI) + (0,5 \times \Sigma \omega 6 + (3 \times \Sigma \omega 3) + ($

$\Sigma\omega3 / \Sigma\omega6$ }, segundo Ulbricht e Southgate (1991); b) razão entre ácidos graxos hipercolesterolêmicos e hipocolesterolêmicos = (C14:0 + C16:0)/(monoinsaturado + poliinsaturado) e Ácidos Graxos Desejáveis (AGD) = (insaturados + C18:0) segundo Costa *et al.* (2008); c) razão entre ácidos graxos poli-insaturados e ácidos graxos saturados e razão entre $\omega6$ e $\omega3$.

2.9 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas dos queijos foram realizadas no Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal e Vegetal (TPAV) da UNIMONTES – *Campus* Janaúba. No laboratório, as amostras de queijo foram submetidas à limpeza externa das embalagens com álcool 70 % para remoção dos contaminantes presentes; logo em seguida, foram retiradas assepticamente 25 g do produto que foi homogeneizado em 225 ml de água peptonada tamponada a 0,1 % para se obter a diluição inicial de 10^{-1} seguidas de diluições decimais até 10^{-3} .

A determinação do NMP (número mais provável) de coliformes a 35 °C foi realizada a partir da diluição 10^{-1} para então serem transferidas alíquotas de 1 ml para tubos de ensaio contendo tubos de *Durhan* invertidos, imersos em caldo lauril triptose. As amostras foram incubadas a 35 °C por 48 horas. Para confirmação da presença de coliformes totais, foi realizada a inoculação dos tubos positivos em caldo verde brilhante. A confirmação da presença de coliformes a 45 °C foi realizada por meio da inoculação em caldo *E. coli*, a partir de tubos positivos na análise de coliformes totais, com incubação em temperatura seletiva de 45 °C por 48 horas. O resultado foi expresso em NMP de coliformes totais por grama conforme Brasil (2003).

2.10 Análise Sensorial

A análise sensorial foi realizada no Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal e vegetal da UNIMONTES – *Campus* Janaúba.

A avaliação dos queijos pelos julgadores não treinados foi realizada por meio do teste de aceitação sensorial descrito por Meilgaard *et al.* (1999). A análise sensorial do queijo foi feita em quatro períodos, com 30 provadores por período, as amostras foram codificadas e cortadas em cubos, com peso de 25 g, e fornecidas em copinhos descartáveis. As amostras com seus respectivos códigos foram servidas simultaneamente e classificadas pelos provadores para avaliação da aceitação geral do mesmo, dando-se a nota de valor 1 para a menos aceita e 9 para a mais aceita.

Os dados foram avaliados calculando-se a diferença mínima significativa (DMS) da soma de ordens de cada amostra de acordo com o Método de Friedman (níveis de significância de 5 %) (MEILGAARD *et al.*, 1999).

FIGURA 1. Ficha de avaliação sensorial apresentada aos provadores

TESTE DE ACEITAÇÃO		
Nome: _____ Data: _____		
Por favor, avalie a amostra utilizando a escala abaixo para escrever o quanto você gostou ou desgostou do produto. Marque a posição da escala que melhor reflita seu julgamento.		
9- Gostei extremamente	CÓDIGO	NOTA
8- Gostei muito		
7- Gostei moderadamente	_____	_____
6- Gostei ligeiramente		
5- Indiferente	_____	_____
4- Desgostei ligeiramente		
3- Desgostei moderadamente	_____	_____
2- Desgostei muito		
1- Desgostei extremamente	_____	_____
Comentários: _____		

2.11 Análises Estatísticas

Em função da população de microrganismo ser classificada como uma variável quantitativa discreta, resultante de dados de contagem, foi realizada a transformação logarítmica [Log (X+1)] testou-s através do procedimento GLM (General Linear Models) a aditividade através da análise de covariância dos valores preditos ao quadrado, obtendo-se P=0,8049; a normalidade através do procedimento univariate, com a estatística W (Shapiro-Wilk), com P=0,3052 e a homogeneidade de variância pelo teste de Barthett (P=0,9925).

Os dados relativos às características físico-químicas, perfil de ácidos graxos e índices nutricionais do queijo foram submetidos à análise de variância e quando o teste de F foi significativo, as médias de tratamentos foram comparadas pelo teste de Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade, com o tratamento-controle.

O efeito dos níveis de ureia foi avaliado por meio de regressão, ao nível de 5 % de probabilidade. A análise foi realizada com o software estatístico SAS (SAS INSTITUTE, 2000), conforme o modelo estatístico a seguir:

$$Y_{k(ij)} = \mu + P_i + A_j + T_{k(ij)} + e_{k(ij)}$$

Em que:

$Y_{k(ij)}$ = Observação referente ao tratamento “k”, dentro do período “i” e animal “j”;

μ = Constante associada a todas as observações;

P_i = Efeito do período “i”, com i = 1, 2, 3 e 4;

A_j = Efeito do animal “j”, com j = 1, 2, 3 e 4;

$T_{k(ij)}$ = Efeito do tratamento “k”, dentro do período “i” e animal “j”;

$e_{k(ij)}$ = Erro experimental associado a todas as observações $Y_{k(ij)}$, independente, que por hipótese tem distribuição normal com media zero e variância δ^2 .

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como observado na Tabela 8, os teores de gordura, proteína, resíduo mineral fixo, sólidos totais (ST), umidade, rendimento bruto, rendimento ajustado para umidade, ácido láctico, atividade de água (Aw), pH e textura dos queijos Minas Frescal não foram influenciados pelos níveis de ureia em substituição ao farelo de soja no concentrado das vacas. Os resultados encontrados neste trabalho estão de acordo com os obtidos por Aquino *et al.* (2009), que utilizando até 1,5 % de ureia na dieta de vacas no meio da lactação produzindo em média 22 kg de leite por dia, não verificaram alteração na composição do leite e do queijo.

TABELA 8. Composição físico-química, textura e rendimento do queijo Minas Frescal obtido do leite de vacas F1 (Holandês x Zebu) alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de ureia, coeficientes de variação (CV) e equações de regressão (\hat{Y})

Variáveis	Níveis crescentes de PB na forma de NNP (%)				CV (%)	\hat{Y}
	0	0,92	1,84	2,77		
pH	6,65	6,55	6,5	6,52	1,14	6,56
Aw	0,98	0,98	0,98	0,98	0,64	0,98
Ácido Láctico (%)	0,07	0,05	0,06	0,05	15,14	0,06
Gordura (%)	16,45	16,53	16,53	17,47	5,48	16,75
Proteína (%)	14,17	15,13	13,51	14,06	11,07	14,22
Umidade (%)	57,27	58,13	56,16	56	2,07	56,88
ST (%)	42,74	41,87	43,84	44,01	2,74	43,12
Resíduo Mineral Fixo (%)	3,22	2,63	2,55	2,37	13,41	2,69
Rendimento Bruto (kg/kg)	5,13	5,21	4,71	4,61	6,1	4,91
Rendimento Ajustado (kg/kg)	3,84	3,83	3,62	3,56	8,04	3,71
Textura (kg)	0,33	0,4	0,46	0,38	15,86	0,39

ST = Sólidos Totais; Aw = Atividade de Água.

Os valores de pH constatados no presente trabalho, com variação de 6,50 a 6,65 e concentração de ácido láctico média de 0,06 % indicam que os queijos produzidos apresentaram qualidade satisfatória, o que deve ser confirmado por meio de um teste de análise sensorial, a qual está diretamente relacionada com a aceitação do produto pelo consumidor. Além

disso, esses resultados caracterizam o queijo Minas frescal como sendo um queijo de sabor leve, pouco pronunciado e ligeira acidez.

Em relação aos teores de gordura do queijo, verificam-se resultados variando de 16,45 a 16,75 %. Valores relativamente superiores aos descritos por Aquino *et al.* (2009), que encontraram teores de gordura variando de 13,80 a 14,22 % no queijo Minas Frescal quando avaliaram a substituição do farelo de soja por níveis crescentes de ureia na dieta de vacas leiteiras, e os seus efeitos sobre a composição e o rendimento de fabricação de queijo Minas Frescal; e Aguiar *et al.* (2013), que estudando consumo, produção e processamento do leite de vacas 7/8 Holandês/Gir alimentadas com dietas a base de silagem de cana-de-açúcar (relação volumoso:concentrado 45:55), contendo níveis crescentes de ureia em substituição ao farelo de soja (0; 0,58; 1,17, 1,75 % na MS total da dieta), encontraram valores de gordura variando de 10,33 a 12,70 %.

Verificou-se no presente estudo um percentual médio de proteína bruta de 14,22 %. Em conformidade com Ribeiro (2001), quanto maior o teor de caseínas, maior o rendimento do queijo. Assim, pode-se dizer que as dietas avaliadas, associadas ao nível de produção e genética dos animais, proporcionaram maior concentração de proteína no leite (Tabela 7), o que pode ter contribuído para o elevado rendimento bruto do queijo produzido com valores médios de 4,91 kg/kg e rendimento ajustado com valores médio de 3,71 kg/kg. Dessa maneira, o uso do NNP em total substituição à proteína verdadeira do farelo de soja parece ser viável para vacas F1 Holandês x Zebu nas condições do presente experimento.

Souza e Silva (2005) registraram rendimento bruto de 6,09 kg/kg para o queijo Minas frescal tradicional processado com coalho bovino, cujos valores médios foram maiores o que significa um menor rendimento quando comparados com resultados encontrados no presente trabalho para todas as dietas avaliadas.

A umidade do queijo constatada no presente trabalho foi em média 56,66 % (Tabela 8) e está de acordo com a legislação vigente (BRASIL,

2004) para o queijo Minas frescal, que deve apresentar mais de 55 % de umidade. De acordo com os resultados obtidos para teor de umidade, os queijos podem ser classificados como queijo de “alta umidade”. A Aw verificada no presente trabalho confirma a alta umidade do queijo, visto que os valores médios encontrados para essa variável foi de 0,98 (Tabela 8).

As dietas analisadas não apresentaram efeito sobre os sólidos totais e nem sobre as concentrações do resíduo mineral fixo. Os teores de sólidos totais dos queijos, em média de 43,12 % (Tabela 8) encontrados neste trabalho, são similares aos resultados relatados por Caruso (1997), que descreveram média de 45,18 % de sólidos totais em queijos Minas frescal e relatou tendência de aumento do teor de sólidos totais devido à pequena dessoragem que ocorre com o aumento do tempo de armazenamento.

Não houve efeito das dietas sobre a textura do queijo Minas frescal (Tabela 8), indicando que o queijo produzido com o leite de vacas alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de ureia em substituição ao farelo de soja pode ser considerado macio.

A Tabela 9 mostra a composição percentual de ácidos graxos nos lipídios totais do queijo Minas frescal obtido do leite de vacas F1 (Holandês x Zebu) e não foram observadas diferenças nessa composição em função da substituição do farelo de soja pela ureia na dieta das vacas.

TABELA 9. Concentração de ácidos graxos do queijo Minas frescal obtido do leite de vacas F1 (Holandês x Zebu) alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de ureia

Componentes	Níveis crescentes de PB na forma de NNP (%)				CV (%)	Ŷ
	0	0,92	1,84	2,77		
	mg/g de gordura					
Saturados	75,24	74,51	75,68	76,25	1,65	75,42
C4:0	2,66	2,55	2,63	2,55	6,07	2,6
C6:0	2,15	2,08	2,14	2,10	3,9	2,12
C8:0	1,29	1,26	1,3	1,29	7,06	1,29
C10:0	2,99	2,89	3,01	2,99	9,02	2,97
C12:0	3,94	3,78	4,06	4,02	11,33	3,95
C14:0	12,45	12,41	12,64	12,74	4,29	12,56
C15:0 Anteiso	0,43	0,49	0,49	0,53	6,14	0,48
C15:0	1,02	1,16	1,16	1,15	18,91	1,12
C16:0	38,21	37,29	38,02	39,1	4,57	38,15
C17:0	0,51	0,52	0,52	0,51	7,00	0,51
C18:0	8,23	8,39	8,29	7,84	16,09	8,19
Monoinsaturados	22,06	22,83	21,86	21,45	5,36	22,05
C14:1 C9	1,15	1,1	1,16	1,16	15,51	1,14
C16:1 C9	1,88	1,84	1,9	1,93	7,35	1,89
C18:1 T10-T11-T12	0,63	0,73	0,64	0,57	31,85	0,65
C18:1 C9	15,77	16,54	15,54	15,22	6,92	15,77
C18:1 C11	1,11	1,26	1,32	1,13	26,59	1,2
Poli-insaturados	2,28	2,27	2,07	1,96	9,76	2,14
C18:2 C9 C12	1,30	1,29	1,14	1,11	15,73	1,21
C18:3 n3	0,43	0,41	0,38	0,38	12,56	0,4
C18:2 C9 T11(CLA)	0,28	0,3	0,27	0,23	29,24	0,27

CLA = Ácido linoleico conjugado

O total de ácidos graxos saturados (AGS) foi 75,42 %, sendo que os maiores percentuais foram encontrados para os ácidos palmítico (16:0), com 38,15 %, e o ácido mirístico (C14:0), com 12,45 %. Segundo DIETSCHY (1998), esses ácidos graxos são considerados hipercolesterolêmicos, devido ao fato de esses isômeros demonstrarem menor ação sobre a atividade dos receptores hepáticos para a lipoproteína de baixa densidade (LDL), ou o mau

colesterol, aumentando assim a LDL circulante no plasma sanguíneo. Desse modo, uma quantidade elevada de colesterol no organismo pode levar a doenças cardíacas, doença de Alzheimer e câncer.

Outro ácido graxo saturado com relevante participação na gordura do leite foi o esteárico (C18:0) com 8,23 %. Embora este isômero tenha apresentado participação relevante na gordura do queijo, ele é considerado neutro quanto a sua ação sobre as LDL circulantes (DIETSCHY, 1998).

Dentre os ácidos graxos monoinsaturados (AGMI), o ácido predominante foi o oleico (18:1 C9) apresentando percentual de 15,77 % e o total de AGMI de 22,05 %. O ácido graxo oleico (C18:1 C9) também é considerado na literatura científica como hipocolesterolêmico (DIETSCHY, 1998).

A Tabela 9 também mostra que o ácido linoleico (C18:2 C9 C12), com 1,21 %, foi o ácido graxo poli-insaturado (AGPI) predominante, enquanto o total de AGPI encontrado foi 2,14 %. Elevar a concentração de ácidos graxos insaturados é de grande importância, uma vez que estes são precursores da síntese endógena de CLA C18:2 *cis-9 trans-11*, que tem propriedades anticancerígenas, além de outras benéficas à saúde humana, como a redução de risco de doenças coronarianas e aterosclerose e diminuição da incidência de tumores mamários (PARODI, 1999)

A Tabela 10 apresenta os índices que indicam a qualidade nutricional do perfil lipídico relacionada com a saúde humana encontrados no queijo Minas frescal produzido a partir de dietas com níveis crescentes de ureia. Como pode ser verificado, não houve influência da substituição do farelo de soja pela ureia na dieta das vacas sobre estes índices.

TABELA 10. Índice de aterogenicidade, índice de trombogenicidade, relação Hiper/Hipocolesterolêmicos, ácidos graxos desejáveis, relação de ácidos graxos poli-insaturados/ácidos graxos saturados e relação ômega6/ômega3 do queijo Minas frescal obtido do leite de vacas F1 (Holandês x Zebu) alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de ureia e coeficiente de variação

Variáveis	Níveis crescentes de PB na forma de NNP (%)				CV (%)	Ŷ
	0	0,92	1,84	2,77		
Índice de Aterogenicidade	4,09	3,88	4,16	4,31	7,43	4,11
Índice de Trombogenicidade	5,16	4,9	5,22	5,39	5,65	5,17
Hiper/Hipocolesterol	2,09	1,98	2,12	2,22	7,95	2,1
AG desejáveis	30,99	33,81	31,43	31,59	10,35	31,96
AGP/AGS	0,03	0,03	0,03	0,03	10,08	0,03
Ω6/Ω3	14,45	13,63	14,41	13,94	14,39	14,11

AGP/AGS = Ácidos Graxos Poli-insaturados/Ácidos Graxos Saturados;
Ω6/Ω3 = Relação ômega6/ômega3

No presente estudo, os IA e IT encontrados no leite foram em média 4,11 e 5,17. De acordo com Turan *et al.* (2007), os IA e IT indicam o potencial de estímulo à agregação plaquetária, ou seja, quanto menores os valores de IA e IT, maior é quantidade de ácidos graxos antiaterogênicos presentes em determinado óleo/gordura e, conseqüentemente, maior é o potencial de prevenção ao aparecimento de doenças coronarianas.

Não há valores recomendados para os IA e IT em produtos lácteos, portanto, considera-se que quanto menor for o valor desses índices, mais favorável é o perfil de ácido graxo à saúde humana (SOUSA BENTES *et al.*, 2009).

O índice relacionado às razões entre HH resultou em valor médio de 2,10. Quanto menor a razão HH, mais adequado nutricionalmente é o óleo ou a gordura.

A relação HH constitui um índice que considera a atividade funcional dos ácidos graxos no metabolismo das lipoproteínas de transporte do colesterol plasmático, cujos tipo e quantidade estão relacionados com o maior ou menor risco de incidência de doenças cardiovasculares. Na literatura não há valores recomendados para o índice HH em relação aos produtos lácteos, porém, considera-se como referência o valor 2,0 atribuído aos produtos cárneos (SANTOS-SILVA *et al.*, 2002). Valores inferiores a

2,0 correspondem a produtos com composição de ácidos graxos desejável no aspecto nutricional, pois são compostos, em sua maior parte, de AG hipocolesterolêmicos e, conseqüentemente, reduzem o risco de doenças cardiovasculares (ASSUNÇÃO, 2007). O índice relacionado às razões entre HH constatado no presente trabalho resultou em valor médio de 2,10, mostrando que o queijo Minas frescal obtido de leite de vacas F1 (Holandês x Zebu) alimentadas com níveis crescentes de ureia apresenta uma composição de ácidos graxos muito próximo do valor desejável.

A razão AGPI/AGS abaixo de 0,45 tem sido considerada como indesejável na dieta (DEPARTMENT OF HEALTH AND SOCIAL SECURITY, 1994) por sua potencialidade na indução do aumento de colesterol sanguíneo. O valor médio encontrado neste estudo para essa variável foi de 0,03 ficando abaixo dos valores desejados.

Considerando a razão $G\text{D}6/G\text{D}3$, valores abaixo de 4,0 sugerem quantidades desejáveis na dieta para a prevenção de riscos cardiovasculares (DEPARTMENT OF HEALTH AND SOCIAL SECURITY, 1994). A relação $G\text{D}6/G\text{D}3$ encontrada no presente trabalho foi em média 14,11, resultados potencialmente superior as quantidades desejáveis.

A análise microbiológica do queijo teve como objetivo verificar se o produto estava dentro dos requisitos microbiológicos previstos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2004) para a realização da análise sensorial. Os resultados encontrados estão dispostos na Tabela 11.

TABELA 11. Média de população de coliformes a 35 °C, coliformes a 45 °C e mesófilos do queijo Minas frescal obtido do leite de vacas F1 (Holandês x Zebu) alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de ureia e coeficiente de variação

Variáveis	Níveis crescentes de PB na forma de NNP (%)				CV (%)	Ŷ
	0	0,92	1,84	2,77		
Coliformes a 35°C (x10 ³ NMP/g)	2,72	2,64	2,69	2,67	5,27	2,68
Coliformes a 45°C (x10 ³ NMP/g)	3,00	3,00	3,00	3,00	0,00	3,00
Mesófilos (x10 ³ NMP/g)	3,94	3,43	3,6	3,92	21,62	3,73

NMP/g = número mais provável por grama.

Os resultados demonstraram que a população de coliformes a 35 °C, coliformes a 45 °C e mesófilos encontravam-se dentro do limite tolerado para queijo de alta umidade com coagulação enzimática, prevista pela legislação que é de 5 x 10³ NMP/g (BRASIL, 2003). Desse modo, as amostras foram submetidas à análise sensorial.

A Tabela 12 apresenta os resultados do teste de aceitação geral do queijo Minas frescal. Como pode ser observado, não houve diferença significativa quanto à aceitação geral dos queijos dos diferentes tratamentos por parte dos provadores.

TABELA 12. Médias do teste de aceitação sensorial do queijo Minas Frescal obtido do leite de vacas F1 (Holandês x Zebu) alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de ureia

	Níveis crescentes de PB na forma de NNP (%)			
	0	0,92	1,84	2,77
Médias	7,24	7,17	7	6,83

Constatou-se no presente trabalho, por meio do teste de aceitação geral do queijo Minas frescal, empregando-se a escala hedônica de nove pontos uma média variando de 6,83 a 7,24. Na pontuação definida na escala hedônica, nos resultados mencionados, atribui-se ao queijo uma classificação: “gostei ligeiramente” para o valor 6,83 e “gostei moderadamente” para a média 7,24. Os resultados encontrados para o teste

de aceitação geral são considerados satisfatórios já que os mesmos aproximam-se muito mais do valor 9 (gostei extremamente) que do valor 1 (desgostei extremamente). Além disso, a aceitação sensorial satisfatória do queijo Minas frescal também pode ser explicada em função da tradição regional do consumo desse produto.

Resultados parecidos aos encontrados no presente trabalho também foram verificados por outros autores tais como Santos *et al.* (1997), os quais estudaram testes de coalhos com queijos prato e Minas frescal utilizando-se a escala hedônica de nove pontos, e encontraram uma média de 6,5 para o queijo Minas, indicando que os provadores gostaram ligeiramente do queijo; e por Machado *et al.* (2004), os quais avaliaram as características físico-químicas e sensoriais do queijo Minas artesanal produzido na região do Serro/Minas Gerais, por meio da escala hedônica de nove pontos e encontraram uma média de 6,0 para o queijo Minas artesanal do Serro, indicando que os provadores também gostaram ligeiramente do produto.

CONCLUSÃO

A ureia pode ser utilizada em substituição total ao farelo de soja na dieta vacas F1 Holandês x Zebu, com produção de até 10 kg de leite corrigido para 3,5 % de gordura dia⁻¹, sem alterar rendimento, composição físico-química, perfil de ácidos graxos e aceitação do queijo Minas frescal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, A. C. R. *et al.* Consumo, produção e composição do leite e do queijo de vacas alimentadas com níveis crescentes de ureia. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 1, p. 37-42, 2013.

ANDREATTA, E. *et al.* Quality of Minas frescal cheese prepared from milk with different somatic cell counts. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, p. 320-326, 2009.

AQUINO, A. A. *et al.* Efeito de níveis crescentes de uréia na dieta de vacas leiteiras sobre a composição e rendimento de fabricação de queijos minas frescal. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v. 46, n. 4, p. 273-279, 2009.

ASSUNÇÃO, J. M. P. **Contribuição para o estudo da composição lipídica e do valor nutricional de leites e produtos lácteos dos açores**. 2007. 113 f. Dissertação (Mestrado em controlo da qualidade e toxicologia dos alimentos) Universidade de Lisboa, Lisboa, 2007.

BLOCK, E. Nutrição de vacas leiteiras e composição do leite. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE. 2, 2000. Curitiba, **Anais...** Curitiba: Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa/Universidade Federal do Paraná, 2000. p. 85-88.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos para Controle de leite e Produtos Lácteos. **Instrução Normativa nº 62**, de 29 de dezembro de 2011. Disponível em <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em 18 fev. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos. **Instrução Normativa nº. 22** de 14 de dezembro de 2006. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2006. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em 18 fev. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. **Instrução Normativa nº 4**, de 01 de março de 2004. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2004. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em 18 fev. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. **Instrução Normativa n. 62**, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 set. 2003. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 18 fev. 2014.

COSTA, R. G. *et al.* Características químicas e sensoriais do leite de cabras Moxotó alimentadas com silagem de maniçoba. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 4, p. 694-702, 2008.

CHRISTIE, W. W. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesterol esters. **Journal of Lipid Research**, New York, v. 23, p. 1072, 1982.

DEPARTMENT OF HEALTH AND SOCIAL SECURITY. Nutritional aspects and cardiovascular disease: report on health and social subjects. **HMSO**, London, n. 46, p. 1-178, 1994.

DIETSCHY, J. M. Dietary fatty acids and the regulation of plasma low density lipoprotein cholesterol. **Journal Nutrition**, Gainesville, v. 2, n. 128, p. 444-448, 1998.

EIFERT, E.C. *et al.* Perfil de ácidos graxos do leite de vacas alimentadas com óleo de soja e monensina no início da lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa-MG, v. 35, n. 1, p. 219-228, 2006.

EMMONS, D. B.; DUBÉ, C.; MODLER, H. W. Transfer of Protein from Milk to Cheese. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v. 86, p. 469-485, 2003.

FERNANDES, M. F. *et al* Características físico-químicas e perfil lipídico do leite de cabras mestiças Moxotó alimentadas com dietas suplementadas com óleo de semente de algodão ou de girassol. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa-MG, v. 37, n. 4, p. 703-710, 2008.

HARA, A.; RADIN, N. S. Lipid extraciton of tissues with lowtoxicity solvent. **Analitical Biochemistry**, New York, v. 90, p. 420-426, 1978.

LUCEY, J.; KELLY, J. Cheese yield. **Journal of the Society of Dairy Technology**, Huntingdon Cambs, v. 47, n. 1, p. 1-14, 1994.

MACHADO, E. C. *et al*. Características físico-químicas e sensoriais do queijo Minas artesanal produzido na região do Serro, Minas Gerais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 516-521, 2004.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory evaluation techniques**. Boca Raton: CRC Press, 1999. v. 2, 387 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL-NRC. **Nutrient requeriments of dairy cattle**. 7th ed. Washington: NRC, 2001. 381 p.

O'CONNOR, T.P; O'BRIEN, N. R. Nutritional Aspects of cheese. In: FOX, P. F; GUINEE, T. P; COGAN, I. M; McSWEENEY, P. L. H . **Fundamentals of Cheese Science**. New York: Aspen Publishers, 2000.

OLIVEIRA, J. S. **Queijo: fundamentos tecnológicos**. 2. ed. Campinas: Unicamp, 1986. 146 p.

PARODI, P. W. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 82, p. 1339-1349, 1999.

RIBEIRO, E. P. Queijos. In: AQUARONE, E. *et al*. **Biotecnologia industrial na produção de alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. v. 4. cap. 8, p. 225-253.

SANTOS-SILVA, J.; BESSA, R. J. B.; SANTOS-SILVA, F. Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs: Fatty and composition of meat. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 77, n. 2, p. 187-194, 2002.

SANTOS, D. M., GALVÃO, L. C. A., MENEZES, H. C. Tecnologia de queijos. I -Testes de coalhos com queijos prato e minas frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 8, p. 95, 1997.

SAS INSTITUTE. SAS/STAT User's guide. Version 8. Cary, NC, 2000.

SILVA, M. M. C. *et al.* Suplementação de lipídios em dietas para cabras em lactação: consumo e eficiência de utilização dos nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa-MG, v. 36, n. 1, p. 257-267, 2007.

SOUSA BENTES, A. *et al.* Caracterização física e química e perfil lipídico de três espécies de peixes amazônicos. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Paraná, v. 3, n. 2, p. 97-108, 2009.

SOUZA, R. P. N.; SILVA, R. S. S. F. Estudo de custo e rendimento do processamento de queijo Minas frescal. **Ciências Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 170-174, 2005.

ULBRICH, T. L. V.; SOUTHGATE, D. T. A. Coronary heart disease: seven dietary factors. **Journal Lancet**, Minneapolis, v. 338, n. 19, p. 985-992, 1991.

TURAN, H.; SÖNMEZ, G.; KAYA, Y. Fatty acid profile and proximate composition of the thornback ray (*Raja clavata*, L. 1758) from the Sinop coast in the Black Sea. **Journal Fisheries Science**, Ottawa, v. 1. n. 2, p. 97-103, 2007.