



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**QUALIDADE DO LEITE DE CABRAS SAANEN EM LACTAÇÃO ALIMENTADAS
COM FENO DE MANIÇOBA**

Ney Bráulio de Oliveira Lins
ZOOTECNISTA

RECIFE
JULHO 2013



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**QUALIDADE DO LEITE DE CABRAS SAANEN EM LACTAÇÃO ALIMENTADAS
COM FENO DE MANIÇOBA**

Ney Bráulio de Oliveira Lins

RECIFE
JULHO 2013

NEY BRÁULIO DE OLIVEIRA LINS

**QUALIDADE DO LEITE DE CABRAS SAANEN EM
LACTAÇÃO ALIMENTADAS COM FENO DE MANIÇOBA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em zootecnia, Produção Animal.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Orientador: Prof. Dr. Severino Benone Paes Barbosa

Coorientadores: Profa. Dra. Ângela Maria Vieira Batista

Prof. Dr. Francisco Fernando Ramos de Carvalho

RECIFE

FEVEREIRO/2013

Ficha catalográfica

L759q Lins, Ney Bráulio de Oliveira
Qualidade do leite de cabras Saanen em lactação
alimentadas com feno de maniçoba / Ney Bráulio de Oliveira
Lins. – Recife, 2013.
57 f. : il.

Orientador: Severino Benone Paes Barbosa.
Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade
Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Zootecnia,
Recife, 2013.
Inclui referências e anexo(s).

1. Células somáticas 2. Citometria de fluxo 3. *Manihot
Pseudoglaziovii* I. Barbosa, Severino Benone Paes,
orientador II. Título

CDD 636.082

**QUALIDADE DO LEITE DE CABRAS SAANEN EM LACTAÇÃO ALIMENTADAS
COM FENO DE MANIÇOBA**

Dissertação defendida e aprovada pela Comissão Examinadora em 1º de julho de 2013.

Orientador:



Severino Benone Paes Barbosa, Dr.
Prof. do Deptº de Zootecnia/UFRPE, Recife-PE

Comissão Examinadora:



Adriana Guim, Dra.
Profa. do Deptº de Zootecnia/UFRPE, Recife - PE



Francisco Fernando Ramos de Carvalho, Dr.
Prof. do Deptº de Zootecnia/UFRPE, Recife - PE



Rita de Cássia Ramos do Egypto Queiroga, Dra.
Profa. do Deptº de Nutrição/ UFPB, João Pessoa - PB

**RECIFE
JULHO 2013**

A minha mãe

Marinalda (*in memoriam*), a mulher guerreira que conseguiu ser mãe e pai nas horas difíceis e que abdicou de sua vida para dar o melhor para seus filhos;

Exemplo de honestidade, educação e AMOR por nós e pelo próximo;

Acredito que o Senhor e Criador de todas as coisas precisou colher mais cedo uma flor para enfeitar os jardins celestiais.

Saudades eternas.

A Ney, meu pai;

Sei que você é muito especial e que verá as maravilhas de Deus em sua vida.

Te amo!!!

Às minhas irmãs Janaína, Alana e Gabriela, pelo incentivo e compreensão e, que mesmo longe, sempre estiveram participando. Amo-as de montão.

Ao meu querido filho Olavo que, mesmo longe, sempre estamos nos falando e com

muitas saudades,

Te amo, filho.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, ser iluminado, que sempre me capacita dando força para concretizar meus objetivos;

Às minhas queridas irmãs (Janaína e Alana Lins com seus respectivos maridos Júnior 2 e Júnior 1);

Ao Olavo, o meu grande tesouro, mesmo separados pela distância, mas unidos pelo amor fraternal; TE AMO, FILHO.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, nas pessoas que fazem o Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, pela oportunidade de realização do mesmo;

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos;

Ao PROGENE e aos que fazem parte da equipe. Momentos de responsabilidades, risos, festividades, fizeram parte dessa temporada;

Ao meu orientador Prof. Benone, pela paciência e atenção e pela oportunidade dada ao me convidar a participar do PROGENE, quando eu acabava de chegar do Mato Grosso em busca de reintegração com a Universidade;

A minha coorientadora, Profa. Ângela, por quem tenho muito carinho e respeito, pelas discussões, pelas orientações, pela amizade, pois desde o PET-ZOO já era a minha tutora, uma história antiga;

A meu coorientador, Prof. Francisco, por estar presente e acompanhando o experimento nos momentos que precisei;

A minha família, no fundo do coração agradeço, pois quantas vezes estive ausente nas comemorações e nos dias importantes. Amo todos;

A minha amiga Marta Xavier, eita que luta. Dividir o experimento com Marta (Sra. Dona de Engenho) kkk, foi muito bom. Agradeço a Augusto e Guilherme que participaram junto conosco desse grande aprendizado;

Aos estagiários (Alessandra Castelo Branco, Everton Lima, Leonardo Barros, Luiz Wilker, Raíssa Camila - RH, Regina Celia, Thays Lira, Tobias Barros, Tomás Guilherme;

Ao Progene (Maria José, Maria do Carmo, Ricardson Silva, Catarina Xavier, Débora Magalhães e Lucineide Silva);

A Sr. José por ter sido sempre o valente, tratando dos animais e disposto a trabalhar com garra, em nossa geração são poucos os valentes assim;

A Dona Inês pela receptividade nos quatro meses em que fiquei em sua casa, experiências boas em tempo de experimento, obrigado!!!;

Dona Fátima e família que durante anos supriram as minhas necessidades principalmente quando chegava próximo ao meio dia (kkkk). Obrigado pela atenção e carinho também, posto que nos permitia entrar em sua casa e ter um momento que acho tão bom, que é estar em família;

Aos amigos de Pós - graduação (Agenor Ribeiro, Ana Maria, Carlos Deroide,

Anidene Cristina - Cris, Érica Carla, Fabiana Lopes, Ítala Iara, Keyla Santos (desde o PET até a especialização juntos), Laís Jacopini, Laura Maciel, Leandro Fragoso, Luciana Valença (pense numa luta pra conseguir desde a inscrição), Marcelo José Ferreira (pela força), Marismênia Moura, Marta Xavier (pessoa maravilhosa e sempre calma), Michel Maciel, Paulo Fabrício (por emprestar os ouvidos quando precisei), Paulo Márcio, Sharlene Braz, Soraya Freitas, Wandenberg Freita - Wando.
Aos funcionários do Departamento de Zootecnia, Priscila, Cristina e George.

Enfim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente por mais esta realização...

MUITO OBRIGADO!!!!

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sei o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Martin Luther King)

SUMÁRIO

Revisão de Literatura	12
1.0 - Maniçoba na alimentação de ruminantes	12
2.0 - Produção de leite de cabra e alguns fatores que afetam a qualidade	15
2.1 – Contagem de células somáticas e contagem bacteriana total como critério de avaliação da qualidade do leite	16
3.0 - Uso de conservante para preservação do leite	19
4.0 - Sistema Lactoperoxidase	21
Referências Bibliográficas.....	23

Capítulo Único: Qualidade do leite de cabras Saanen em lactação alimentadas com feno de maniçoba

Resumo.....	31
Abstract.....	32
Introdução.....	33
Material e Métodos.....	35
Resultados e Discussão.....	40
Conclusão.....	47
Referência Bibliográficas.....	48
Anexo A - Determinação do íon tiocianato no leite.....	53
Anexo B - Determinação do teor de ácido cianídrico.....	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição química dos ingredientes das dietas experimentais.....	36
Tabela 2 – Composição percentual dos ingredientes e composição química das dietas experimentais.....	37
Tabela 3 – Consumo de matéria seca e de nutrientes, em função dos níveis de substituição do feno de tifton pelo feno de maniçoba.....	38
Tabela 4 – Valores médios da concentração do íon tiocianato (SCN ⁻), contagem de células somáticas (CCS) e escore de células somáticas (ECS).....	40
Tabela 5 – Hemograma de cabras em lactação em função do nível de substituição de feno de tifton por feno de maniçoba.....	43
Tabela 6 – Composição química, contagem bacteriana total (CBT) e contagem de células somáticas (CCS) no leite de cabras, em função do nível de substituição do feno de tifton por feno de maniçoba e da presença ou não de conservante no leite de cabra.....	45

REVISÃO DE LITERATURA

1.0 - Maniçoba na alimentação de ruminantes

Na região semiárida nordestina encontra-se o bioma caatinga que, por sua extensão e grandes diversidades de plantas com potencial forrageiro, vem fazendo os pesquisadores se interessarem pelas fontes de recursos alimentares para os rebanhos dessa região. No semiárido do Nordeste brasileiro, ocorrem longos períodos de estiagem decorrentes da má distribuição de chuvas durante o ano, o que resulta em baixa disponibilidade e decréscimo no valor nutritivo das forragens utilizadas para a alimentação animal na época de seca. Portanto, este tem sido o grande desafio na pecuária do semiárido: produzir alimentos de bom valor nutritivo, para suprir as necessidades nutricionais dos animais no período de maior escassez de alimentos.

A caatinga oferece recursos forrageiros naturais, constituídos de plantas fisiologicamente adaptadas às condições particulares desse ecossistema, com bons valores nutritivos, palatabilidade, e que tem mostrado grande potencial para utilização nas dietas dos animais (ALVES et al., 2007; COSTA et al., 2007; MARQUES et al., 2007). Esses recursos forrageiros precisam ser valorizados tanto para cultivo em campos de produção, como para enriquecimento ou recuperação de áreas degradadas da caatinga.

Dentre as espécies forrageiras, destaca-se a palma forrageira que tem sido utilizada em vários níveis na alimentação de ruminantes, no consórcio de alimentos volumosos ou concentrados, embora se precise de mais estudos para verificar a possibilidade de se utilizar grandes quantidades de palma forrageira associada a forrageiras nativas, como a maniçoba (*Manihot glaziovii* Muell. Arg), visando maximizar o uso desses alimentos para a produção de leite no nordeste brasileiro.

As maniçobas são espécies nativas da família *Euphorbiaceae*, difundidas no Nordeste,

aparecendo também na região Centro Oeste, até Mato Grosso do Sul. Crescem em áreas abertas e desenvolvem-se na maioria dos solos, tanto calcários e bem drenados, como também naqueles poucos profundos e pedregosos das elevações e das chapadas (SOARES, 1995). Por ser uma planta nativa da caatinga, a maniçoba possui naturalmente resistência ao ambiente quente e seco da região, o que, associado a seu bom valor nutricional, confere-lhe característica ímpar para uso na alimentação dos animais da região (COSTA et al., 2007 e MEDINA et al., 2009).

A propagação de maniçoba pode ser efetivada por via seminífera ou assexuada. Entretanto, estudos verificaram que a propagação desta espécie através de estacas apresenta dificuldades no enraizamento (RODOLFO JUNIOR et al., 2009) e as sementes de maniçoba possuem um grande problema com dormência, que tem dificultado a propagação e cultivo da espécie. Também a perda de folhas no período seco revela a necessidade de manejo da forrageira, com cortes durante o período das chuvas. Segundo Ferreira et al. (2009), a maniçoba possui o sistema radicular bem desenvolvido, raízes tuberosas, onde se acumulam suas reservas, e proporciona à planta grande capacidade de resistência à seca, sendo uma das primeiras espécie da caatinga a desenvolver sua folhagem após o início do período das chuvas.

Esta forrageira tem alto grau de palatabilidade, razoável teor de proteína e boa produção de forragens com maior teor de carboidratos não fibrosos em relação às gramíneas tropicais (DANTAS et al., 2008; PORTO et al., 2006). Entretanto, há restrição ao seu uso na forma fresca, quando em pastejo exclusivo, devido à possibilidade de intoxicação por apresentarem em sua composição quantidades variáveis de glicosídeos cianogênicos que, ao serem hidrolisados pela ação de enzimas presentes na própria planta, dão origem ao ácido cianídrico (HCN). A fenação e a ensilagem, após trituração de todo o material forrageiro produzido, são

os meios mais recomendados de utilização da maniçoba (FRANÇA et al., 2010).

A maniçoba apresenta, na planta verde em início de brotação, teor médio de HCN de 1.000 mg/kg de MS, quantidade suficiente para provocar intoxicação em animais. Por outro lado, quando triturada e seca (fenada) e/ou submetida a processos de fermentação (silagem) o teor de HCN reduz para menos de 300 mg/kg de MS, quantidade insuficiente para provocar qualquer sintoma de intoxicação em animais, mesmo que consumida em grande quantidade e por muito tempo (ARAÚJO & CAVALCANTI, 2002; SILVA & QUEIROZ, 2002).

O ácido cianídrico é produzido após a ocorrência de danos mecânicos ou fisiológicos no tecido da planta, quando as principais substâncias cianogênicas (linamarina e lotaustralina), que se encontram separadas no tecido vivo e íntegro dentro dos vacúolos, em presença de água, entram em contato com a enzima linamarase, localizada na parede celular. Nessa primeira fase, são produzidas glucose e acetona cianidrina e, na segunda fase, a enzima hidroxinitrilo liase catalisa a degradação da acetona cianidrina para a produção de acetona e HCN. A enzima dessa segunda fase também se encontra na parede celular e a reação pode ocorrer espontaneamente quando o pH for maior que 4,0 e a temperatura superior a 30°C (CAVALCANTI & ARAÚJO, 2000).

Uma vez alimentados com plantas ricas em HCN, o organismo animal tem capacidade de eliminar de 0,5 a 3,5mg de HCN/kg peso vivo, por meio da utilização de aminoácidos sulfurados (metionina e cistina) que, sob a ação da enzima rodanase, produzem tiocianatos que são eliminados pela urina. Por isso, os ruminantes necessitam ser suplementados com esses aminoácidos quando alimentados com plantas cianogênicas, sendo o enxofre orgânico o suplemento nutricional que parece ser mais eficaz. Recomenda-se a suplementação também com zinco, iodo, cobre e selênio, pois as deficiências desses elementos são agravadas na presença de cianetos (ARAÚJO & CAVALCANTI, 2002).

2.0 - Produção de leite de cabra e alguns fatores que afetam a qualidade

A caprinocultura leiteira tem aumentado de forma significativa sua participação no cenário agropecuário brasileiro, principalmente pelo fato de ser uma importante alternativa para desenvolvimento e rentabilidade da pecuária na região semiárida do Nordeste, porém ainda faltam técnicas de manejo que possam melhorar a produção (SOUZA, et al., 2011).

A produção de leite tem papel fundamental em todas as economias, especialmente nos países em desenvolvimento, porque, além de envolver um componente social, o leite é considerado um produto essencial para a população nestes países (ZOCCAL & GOMES, 2005).

O Brasil possui um rebanho caprino com cerca de 10,05 milhões de cabeças e produz anualmente 135 milhões de litros de leite de cabra, sendo o maior produtor do continente americano (FAO, 2011). No Nordeste, o destaque fica para a Bahia, sendo o Estado com o maior efetivo (30,2%), seguido por Pernambuco (17,9%), segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2011).

A produção e comercialização do leite de cabra, no Brasil, são regulamentadas através da Instrução Normativa 37 (BRASIL, 2000), que estabelece como padrões mínimos 2,9% de gordura, 2,8% de proteína bruta, 4,3% de lactose e 8,2% de extrato seco desengordurado.

O leite de cabra é um alimento de alto valor nutritivo indicado inclusive para indivíduos que sofrem de problemas digestivos e que não toleram o leite bovino (HAENLEIN, 2004; PARK et al., 2007).

Com aprimoramento da criação de caprinos e aumento na produção leiteira tem surgido maior preocupação com a qualidade do leite, o que requer controle de alguns fatores de manejo e controle sanitário que podem alterar características deste produto.

Dentre alguns fatores destaca-se a mastite como uma das enfermidades mais comuns em

rebanhos de caprinos leiteiros (CONTRERAS et al., 2007; MOTA, 2008; VILANOVA et al., 2008). Apresenta etiologia ampla, sendo a infecção causada primordialmente por microrganismos (ANDERSON et al., 2004). Essa enfermidade nas cabras gera prejuízos econômicos para o produtor devido ao descarte do animal e do leite, custos com medicamentos e assistência veterinária, aumento da mão de obra, redução da quantidade e qualidade do leite e seus subprodutos (BARROS & LEITÃO, 1992), o que pode gerar problemas de maior proporção à saúde pública, além das penalidades aplicadas pelos órgãos de fiscalização.

Os elementos nutricionais, sobretudo proteínas, carboidratos, vitaminas e minerais contidos no leite, transformam-no em um excelente substrato para o crescimento de microrganismos. Por esse motivo, o leite deve ser obtido com máxima higiene e mantido em baixa temperatura, desde a ordenha até a ocasião de seu beneficiamento, visando garantir as características físicas, químicas e nutricionais do produto final (OLIVEIRA, 2008).

2.1 – Contagem de células somáticas e contagem bacteriana total como critério de avaliação da qualidade do leite

A resposta inflamatória que se desenvolve no interior do úbere tem a finalidade de destruir ou neutralizar os agentes infecciosos, suas toxinas e permitir que a glândula mamária retome a sua produção normal. Pode ocorrer destruição de células epiteliais, responsáveis pela síntese dos principais constituintes do leite, como proteína, gordura e lactose, com redução da capacidade produtiva do animal (BRITO et al., 2002).

As células leucocitárias presentes na glândula mamária constituem um dos principais mecanismos de defesa contra a invasão e a proliferação de agentes potencialmente causadores da mastite, existindo uma correlação entre o número de células somáticas e a presença da

infecção intramamária (SILVA et al., 2005).

As células consideradas somáticas são aquelas presentes no leite e originárias tanto da descamação dos alvéolos apoptóticos (morte celular), quanto àquelas removidas durante o fluxo da corrente sanguínea. As principais células encontradas são os leucócitos (PAAPE et al., 2002; CAMPOS et al., 2008), que são eliminados naturalmente durante o curso normal da lactação, na ordenha (GALIERO & MORENA, 2000).

A maioria dessas células passa do sangue para a cisterna da glândula mamária em resposta a um estímulo e uma pequena proporção desprende-se da glândula à medida que envelhecem. Essas últimas são conhecidas como células epiteliais. As células que se originam do sangue, células brancas ou leucócitos, possuem a capacidade de defender o animal de agressões externas, causadas por microrganismos, traumas e substâncias químicas (SOUZA et al., 2007). Contudo, essas células epiteliais aumentam no leite de cabras com sintomatologia de mastite, sobretudo pelo aumento no número de leucócitos.

No epitélio glandular mamário de cabras, observa-se o tipo de secreção denominada apócrina, onde pequenas partículas citoplasmáticas são secretadas junto ao leite e, por possuírem tamanho semelhante ao dos leucócitos, podem ser contabilizadas como células somáticas (MAGALHÃES, 2005).

Altas contagens de células somáticas (CCS) ocasionam diversas mudanças na composição do leite, pois há alterações na permeabilidade dos vasos sanguíneos da glândula mamária, reduzindo a secreção dos componentes do leite sintetizados na glândula (proteína, gordura e lactose), pela ação direta dos patógenos ou de enzimas sobre os componentes secretados no interior da glândula (SANTOS, 2002; MACHADO et al., 2000).

Normalmente os valores para CCS no leite de cabra são relativamente mais elevados que os de vacas e inversamente proporcionais à produção de leite, aumentando sua

concentração à medida que a lactação se aproxima do final, quando se observam contagens próximas a 5.000.000 de células/mL (PUGH, 2004).

O método de contagem eletrônica de células somáticas no leite é uma forma de diagnóstico da mastite subclínica, aceita internacionalmente como critério de avaliação da sanidade da glândula mamária, conseqüentemente, da qualidade do leite produzido (LANGONI, 2000). Por isso, a CCS é importante no monitoramento das inflamações das glândulas mamárias responsáveis pela produção de leite.

E, em se tratando da qualidade do leite, os principais microrganismos envolvidos na contaminação são as bactérias, visto que os vírus, fungos e leveduras têm participação reduzida em termos de contaminação. Com relação à faixa de temperatura ótima para multiplicação, as bactérias podem ser classificadas em três categorias distintas: psicrófilas, mesófilas e termófilas. A faixa ótima de crescimento da microbiota psicrófila encontra-se entre 0°C e 15°C; das mesófilas, entre 20°C e 40°C, e das termófilas, entre 44°C e 55°C. Além dessas, duas outras categorias de microrganismos são importantes: as bactérias psicrotróficas (multiplicam-se na temperatura de refrigeração do leite 7°C) e as termodúricas (sobrevivem à temperatura de pasteurização 63°C por 30 minutos ou 72°C por 15 segundos) (SANTOS & FONSECA, 2007).

Altas contagens de bactérias têm efeito negativo sobre a qualidade do leite, especialmente no que concerne ao sabor, à vida de prateleira e à segurança alimentar do produto disponibilizado ao consumidor. As principais fontes de contaminação do leite estão relacionadas às práticas de ordenha, armazenamento e transporte, visto que o resfriamento, a presença de resíduos de antimicrobianos ou produtos químicos e a qualidade microbiológica da água podem influenciar de forma significativa na contagem bacteriana total (FONSECA & SANTOS, 2000).

De acordo com a IN37 (BRASIL, 2000), o leite de cabra, quando cru, deverá apresentar Contagem Padrão em Placas (CPP) de, no máximo, 500.000 UFC/mL(quinhetas mil Unidades Formadoras de Colônias por mililitro). Dessa forma, a CBT (contagem eletrônica) e a CPP possuem equivalência na contagem de microrganismos.

Implantar Boas Práticas de Procedimentos (BCP) em relação a outros métodos de controle de qualidade do leite é a melhor alternativa, uma vez que possibilita o controle de todos os fatores, recursos e processos relacionados à produção de leite nas propriedades. Todas as práticas de manejo que garantam a obtenção de leite de alta qualidade nas propriedades rurais aumentam a rentabilidade, reforçando a importância das boas práticas na produção de leite em ambiente e condições favoráveis, objetivando a diminuição dos problemas relacionados à qualidade e à segurança do produto final (SILVA & GROOTENBOER, 2008).

3.0 – Uso de conservante para preservação do leite

No Brasil, é necessário o uso de conservantes no leite cru em função da distância territorial, que resulta em um longo tempo decorrido entre a coleta do leite e a realização da análise nos laboratórios. Em contrapartida, existem países em que apenas a refrigeração garante a preservação das amostras, não sendo necessário o uso de conservantes, porque as distâncias entre as fazendas e os laboratórios são curtas, possibilitando a análise em, no máximo, 48 horas após a coleta, conforme recomendação do International Dairy Federation (IDF, 1995).

O conservante bronopol é amplamente utilizado na conservação de amostras destinadas à contagem de células somáticas e à análise de composição. Além do conservante, a refrigeração e a análise em no máximo três dias após a coleta das amostras são fatores

importantes para manutenção da integridade da amostra e obtenção de resultados confiáveis (MONARDES et al., 1996). De acordo com Meyer (2002) e Cassoli et al.,(2010), os teores de gordura, proteína, lactose e sólidos totais e a CCS são semelhantes até sete dias após a coleta, quando as amostras forem conservadas com bronopol, independentemente da temperatura de armazenamento.

O conservante azidiol é o mais recomendado atualmente para análise de contagem bacteriana total. Amostras conservadas com este composto podem ser analisadas até quatro dias após a coleta, se mantidas sob refrigeração a 4°C (ELIZONDO et al., 2007; GONZALO et al., 2003; SESKENA & JANKEVICA, 2007). Em função disso, o tempo de armazenamento, refrigeração e o uso do conservante vão ser primordiais para a integridade das amostras de leite a serem analisadas. Cassoli et al., (2010) relataram que as amostras para contagem bacteriana total também podem ser analisadas em até sete dias após a coleta, desde que estejam refrigeradas a 7°C e com conservantes (azidiol).

De acordo com a Instrução Normativa nº62 do MAPA, as amostras devem ser acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo reciclável e a temperatura de conservação não deve ultrapassar 7°C, durante todo o período compreendido entre a coleta e recebimento no laboratório. Segundo International Dairy Federation (IDF, 1995), amostras de leite podem ser estocadas sem conservante por até 24 horas (tempo decorrido entre a ordenha e a análise no laboratório), desde que mantidas entre 2 e 6°C. No caso de serem analisadas com mais de 24 horas após a ordenha, é necessário adicionar o conservante e deixá-lo atuar por, no mínimo, três horas antes da análise (BRITO, 2001).

4.0 - Sistema Lactoperoxidase

A glândula mamária possui um mecanismo de defesa natural, que pode inativar os microrganismos. Nesse sistema, destacam-se quatro proteínas mais comuns e estudadas: a lactoperoxidase, a lactoferrina, a lisozima e a xantina oxidase. A lactoperoxidase forma um sistema antimicrobiano com peróxido de hidrogênio e tiocianato, também conhecido como sistema lactoperoxidase (SLP). A lactoferrina é uma proteína que se liga ao íon Fe^{3+} e ao ânion carbonato. A lisozima é uma proteína que pode ter um efeito enzimático direto/indireto ou um efeito não enzimático sobre os microrganismos e a xantina oxidase está envolvida na produção de peróxido de hidrogênio, que tanto pode ser usado pelo sistema lactoperoxidase ou diretamente como um agente antimicrobiano (HUI, 1993).

O SLP compreende uma série de reações que se produzem no leite como parte dos mecanismos intrínsecos à proteção da glândula mamária e a outros fluidos biológicos como sangue, saliva, suco gástrico, linfa e urina (ORAM & REITER, 1966; SHARMA & RAJ, 1999; VANOIRBEECK et al., 2005). Possui também a característica de oxidar moléculas na presença de H_2O_2 gerando compostos antimicrobianos. Seus efeitos antimicrobianos também exigem a presença de tiocianato (SCN^-), ou um halogênio como segundo substrato para formar o sistema lactoperoxidase (Figura 1).

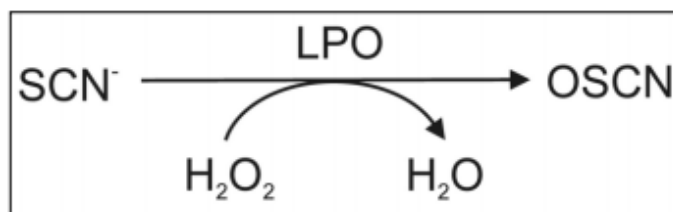


Figura 1. Reação de oxidação de tiocianato catalisada pela enzima Lp

Fonte: DE WIT & VAN HOOYDONK, 1996

No SLP, a enzima catalisa a oxidação do SCN^- para formar hipotiocianato (OSCN^-) e ácido hipotiocianico (HOSCN). Esses compostos reagem com grupos sulfidrílicos de agentes microbianos para inibir várias funções celulares (SHIN et al., 2001).

A concentração de tiocianato no leite depende de seus níveis séricos, os quais, por sua vez, dependem diretamente da dieta (SORDILLO et al., 1997). O peróxido de hidrogênio pode ser gerado endogenamente no processo de fagocitose pelos neutrófilos. Em condições aeróbicas, lactobacilos, lactococos e estreptococos podem ativar o SLP (KUSSENDRAGER & HOOIJDONK, 2000). No entanto, a baixa tensão de oxigênio na glândula mamária pode inibir a produção de peróxido de hidrogênio, limitando a efetividade desse sistema antimicrobiano (SORDILLO & STREICHER, 2002).

Esse sistema apresenta atividade bacteriostática, contra bactérias Gram-positivas, e bactericidas, para as Gram-negativas, sem afetar as células do organismo. Além de suas atividades de proteção do teto, é usada para aumentar a vida útil de produtos lácteos nas gôndolas, visto que controla o desenvolvimento de acidez e mudanças de pH em derivados do leite (ARAÚJO & GHELLER, 2005).

O tiocianato (SCN^-) é uma substância ubíqua nos órgãos (rins, estômago etc), fluidos (espinhal, linfático, plasmático etc) e secreções (leite, saliva etc) dos mamíferos (WOLFSON & SUMNER, 1993; KUSSENDRAGER & HOOIJDONK, 2000) e suas concentrações são variáveis nos diversos fluidos e secreções. Segundo Kussendrager & Hooijdonk (2000), as concentrações de tiocianato em leite são reflexos das concentrações sanguíneas, as quais variam de acordo com a raça, regime de alimentação, saúde do úbere, fatores fisiológicos e tipos de alimentos. As fontes principais de SCN^- são os glucosinolatos e os glucosídeos cianogênicos presentes em diversos alimentos (REITER & HARNULV, 1984), como as plantas do gênero *Manihot*, que durante a hidrólise geram tiocianato. De acordo com estes

autores, a ingestão excessiva de tiocianato pode produzir bócio (ou deprimir a hiperatividade das glândulas tireoides) indiretamente, através de sua interferência no metabolismo do iodo.

Reporta-se o uso potencial do tiocianato em cremes dentais, cosméticos, tratamentos de diarreias e no controle da *Helicobacter pylori* (DAVIDSON, 2001; SHIN et al, 2002; GLANBIA NUTRITIONALS, 2007).

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é considerado um componente do SLP, que pode se formar, endogenamente, pelos leucócitos durante o processo de fagocitose e por um conjunto de bactérias como os lactobacilos, lactococos e estreptococos, bem como por algumas células epiteliais (WOLFSON & SUMNER, 1993). Não obstante, o H_2O_2 pode ter procedência exógena, podendo ser adicionado na forma de percarbonato de sódio ou de peróxido de magnésio (KUSSENDRAGER & HOOIJDONK, 2000).

De acordo com PÉREZ (1987), o excesso de peróxido inibe a ação da enzima lactoperoxidase, razão pela qual quando se adiciona água oxigenada no leite em valores acima de 60 mmoles/L, a enzima se torna inativa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, J. N. et al. Feno de erva-sal (*Atriplex nummularia* Lindl) e palma forrageira (*Opuntia ficul* Mill) em dietas para caprinos e ovinos. **Revista Científica de Produção Animal**, v.9, n.1, p.43- 52, 2007.

ANDERSON, D. E; HULL, B. H; PUGH, D. G. Enfermidades da glândula mamária. In: PUGH, D.G. (Ed). **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, p.379-399, 2004.

ARAÚJO D. K. G.; GHELLER V. A. Aspectos morfológicos, celulares e moleculares da imunidade da glândula mamária de búfalas (*Bubalus bubalis*): revisão de literatura. Disponível em <www.cbra.org.br> **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.29, n.2, p.77-83, abril/jun. 2005.

ARAÚJO, G. G. L.; CAVALCANTI, J. Potencial de utilização da maniçoba. SIMPÓSIO PARAIBANO DE ZOOTECNIA, 2, 2002, Areia. **Anais...** Areia: Simpósio Paraibano de Zootecnia/ Gmosis, 2002. (CD-ROM).

BRASIL. **Instrução Normativa nº 37 de 8 de novembro de 2000** do Ministério da Agricultura. Regulamento Técnico de Produção, identidade e qualidade do leite de cabra. Diário Oficial da União. Disponível no site: http://www.agricultura.gov.br/das/dipoa/legislacaoespecifica_leited.htm.

BRITO, J. R. F. Coleta de amostras de leite para determinação da composição química e contagem de células somáticas. Embrapa Gado de Leite. **Circular Técnica 62**, Juiz de Fora, 2001.

BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P.; ARCURI, E. F. Como reconhecer e controlar a mastite em rebanhos bovinos. **Circular Técnica**. Juiz de Fora, MG, 2002. Disponível em: <<http://www.cnpqg.embrapa.br/publicações/CT70.pdf>>. Acesso em 03 de novembro de 2004.

CAMPOS, R.; LACERDA, L. A.; TERRA, S. R. et al. Parâmetros hematológicos e níveis de cortisol plasmático em vacas leiteiras de alta produção no Sul do Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.45, p.354-361, 2008.

CASSOLI, L. D.; MACHADO, P. F.; COLDEBELLA, A. Métodos de Conservação de Amostras de leite de para determinação da Contagem bacteriana total por citometria de Fluxo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa , v. 39, n. 2, Feb. 2010 .

CAVALCANTI, J., ARAÚJO, G.G.L. Parte aérea da mandioca na alimentação de ruminantes na região semiárida. Petrolina, PE: **Embrapa Semiárido**. Circular Técnico, nº 57, 22p. 2000.

CONTRERAS, A, et al. Mastitis in small ruminants. **Small Ruminant Research**, v.68, p.145-153, 2007.

LINS, N.B.O. Qualidade do leite de cabras Saanen em lactação alimentadas com feno de maniçoba

COSTA, F. G. P; et al. Avaliação do feno de maniçoba (*Manihot pseudoglaziovii* Paz & Hoffman) na alimentação de aves caipiras. **Revista Caatinga**, v.20, n.3, p.42-48, 2007.

DANTAS, F. R.; Composição química e características fermentativas de silagens de maniçoba (*Manihot* sp.) com percentuais de coproduto de vitivinícolas desidratado. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, n. 2, p. 247-257, 2008.

DAVIDSON, P. M. Chemical preservatives and natural antimicrobials compounds. In: DOYLE, M P; BEUCHAT, L R; MONTVILLE, T J. **Food Microbiology: Fundamentals and frontiers**. 2. ed. Washington: Asm Press, p. 593-627, 2001.

DE WIT, J. N.; HOOYDONK, A. C. M. Structure, functions, and application of lactoperoxidase in natural antimicrobial systems. **Netherlands Milk and Dairy Journal**, Amsterdam, v. 50, p. 227-244, 1996.

ELIZONDO, J.A. et al. Efficiency of the proportion of azidiol on preservation in ewe's milk samples for analysis. **Food Control**, v.18, p.185-190, 2007.

FAO. **Statistical databases**, <http://www.faostat.fao.org>. 2011.

FONSECA, L.F.L. & SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle de mastite**: Lemos Editora, 175 p., 2000.

FERREIRA, A. L.; Produção e valor nutritivo da parte aérea da mandioca, maniçoba e pornunça. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 10, n. 1, p. 983-990, 2009.

FRANÇA, A. A; et al. Anatomia e cinética de degradação do feno de *Manihot glaziovii*. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 32, n. 2, p.131- 138, 2010.

GALIERO, G; MORENA, C. The meaning of the somatic cell count in buffalo milk. **Bubalus bubalis**, v.1, p.26-27, 2000.

GLANBIA NUTRIRIONALS. Lactoperoxidase: **Antimicrobials cosmetics**. Acesso 19/09/2011. En: www.glanbianutritional.com (2007).

GONZALO, C.; MARTINEZ, J.R.; CARRLEDO, J.A. Fossomatic cell-counting on ewe milk: comparison with direct microscopy and study of variation factors. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.1, p.138-145, 2003.

HAENLEIN, G. F. W. Goat milk in human nutrition. **Small Ruminant Research**, v.51, n.1, p.155-63, 2004.

HUI, Y. H. **Dairy Science and Technology Handbook**. Wiley-VCH, Inc., New York, U.S.A. (1993).

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pecuária municipal**, 2004. Disponível em: < <http://www.ibge.gov.br>. > Acesso em 19 de julho de 2011.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Milk and milk products: methods of sampling**. Brussels, p. 25, 1995. (IDF Standard, 50 °C).

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Milk: enumeration of somatic cell**. Brussels: IDF/FIL, 8p. 1995. (IDF Standard, 148A).

KUSSENDRAGER, K. D; HOOIJDONK M. A. C. V. Lactoperoxidase: Physico-Chemical properties, occurrence, mechanism of action and application. **British Journal Nutrition**, Cambridge, n. 84, p.519-525, 2000.

LANGONI, H. Tendências de modernização do setor lácteo: monitoramento da qualidade do leite pela contagem de células somáticas. **Revista de Educação Continuada CRMV-SP**, v.3: p.57-64, 2000.

MACHADO, P. F.; PEREIRA, A. R.; SARRÍES, G. A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista**

Brasileira de Zootecnia, vol. 29, n. 6, p. 1883-1886, 2000.

MAGALHÃES, A. C. M. **Obtenção higiênica e parâmetros de qualidade do leite de cabra**, Viçosa, 2005.

MARQUES, A.V. M. S. E. et al. Rendimento, composição tecidual e musculosidade da carcaça de cordeiros Santa Inês com diferentes níveis de feno de flor de seda na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.3, p.610-617, 2007.

MEDINA, F. T; et al. Silagem de maniçoba associada a diferentes fontes energéticas na alimentação de caprinos: desempenho animal. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.31, n.2, p.51-154, 2009.

MEYER, P.M.; MACHADO, P.M.; COLDEBELLA, A., et al. D. Methods of milk storage and age of samples on milk components percentage, somatic cells count and urea nitrogen. **Journal Dairy Science**, v.85, suppl.1, p.285, 2002.

MONARDES, H.G. et al. Preservation and storage mechanisms for raw milk samples for use in milk-recording schemes. **Journal of Food Protection**, v.59, n.2, p.151-154, 1996.

MOTA, R. A. Aspectos epidemiológicos, diagnóstico e controle das mastites em caprinos e ovinos. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.2, n.3, p.57-61, 2008.

OLIVEIRA, C. A. F. de. Qualidade do leite no processamento de derivados. In: GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. 3 ed. rev. São Paulo: Varela, Cap. 5, p. 115 - 129, 2008.

ORAM, J. D. & REITER, B. The oxidation of thiocyanate and the nature of inhibitory compound. **Biochemical Journal**, n.100, p. 273-386, 1966.

PAAPE, M. J.; MEHZARD, J.; ZHAO, X. et al. Defense of the bovine mammary gland by

polymorphonuclear neutrophil leukocytes. **Journal of Mammary Gland Biological Neoplasia**, v.7, p.109-121, 2002.

PARK, Y. W.; JUAREZ, M.; RAMOS; M. et al. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. **Small Ruminant Research**, v.68, p.88-113, 2007.

PÉREZ, L. O. Efecto de inhibición del peróxido de hidrógeno sobre la enzima lactoperoxidasa de origen bovino y caprino. **Revista Biología**, Havana, n. 1, p.13-20, 1987.

PORTO, E. R. et al. Influência de fatores de ambiente sobre a contagem de células somáticas e sua relação com perdas na produção de leite de vacas da raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, p. 415-421, 2006.

PUGH, D. G. **Clínica de Ovinos e Caprinos**. São Paulo: Roca, 513p., 2004.

REITER, B.; HÄRNULV, G. Lactoperoxidase antibacterial system: Natural occurrence, biological functions and practical applications. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 47, n. 9, p. 724-732, 1984.

RODOLFO JUNIOR, F. et al., Tecnologia alternativa para a quebra da dormência de sementes de maniçoba (*Manihot glaziovii*, Euphorbiaceae). **Revista Caatinga**, v.22, n.1, p.20-26, 2009.

SANTOS, M. V. Efeito da mastite sobre a qualidade do leite e derivados lácteos. In: Congresso Panamericano de Qualidade do Leite e Controle da Mastite, 2., Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: p.179-188, 2002.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégia para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. 2. ed. Barueri, SP: Manole, 314p. 2007.

SESKENA, R.; JANKEVICA, L. Influence of chemical preservatives on the quality and composition indices of raw milk. **Acta Universitatis Latviensis**, v.723, p.171-180, 2007.

SHARMA, V.; RAJ, D. Lactoperoxidase system origin, efficacy and its effect on milk constituent: a review. **Indian Jornal Dairy Bioscience**, n.10, p. 9 – 13, 1999.

SHIN, K.; HAYASAWA, H.; LÖNNERDAL, B. Inhibition of *Escherichia coli* respiratory enzymes by the lactoperoxidase - hydrogen peroxidethiocyanate antimicrobial system. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11309058>, **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, [online], v. 90, n. 4, p. 489-493, apr. 2001.

SHIN, K. et al. Susceptibility of *Helicobacter pylori* and its urease activity to the peroxidase-hydrogen peroxide-thiocyanate system: a review. **Jornal Medicine Microbiology**, n. 51, p.231-237, 2002.

SILVA, D. J. & QUEIROZ, A. C. Análise de Alimentos: métodos químicos e biológicos. 3 ed. Viçosa: UFV, **Imprensa Universitária**, 235p., 2002.

SILVA, E. R.; et al. Efeito do estágio de lactação e da ordem de parto sobre o conteúdo celular do leite de cabras mestiças. **Veterinária Notícias**, v.11, n.1, p.81-86, 2005.

SILVA, W. O. & GROOTENBOER, C. S. Avaliação das práticas adotadas na produção de leite para uma fábrica de laticínios situada no Rio de Janeiro. **Pubvet**, v.2, n.9, 2008.

SOARES, J. G. G. Cultivo da maniçoba para produção de forragem no semiárido brasileiro. Petrolina, PE: **EMBRAPA-CPATSA**, 4p. (EMBRAPA CPATSA. Comunicado Técnico, 59), 1995.

SORDILLO, L. M.; SHAFER-WEAVER, K.; DEROSA,D., Immunobiology of the mammary gland. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n.8, p.1851-1865, 1997.

SORDILLO, L. M.; STREICHER, K. L. Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v.7, n.2, p.135-146, 2002.

LINS, N.B.O. Qualidade do leite de cabras Saanen em lactação alimentadas com feno de maniçoba

SOUZA, B. B. D. et al. Efeito do clima e da dieta sobre os parâmetros fisiológicos e hematológicos de cabras da raça saanen em confinamento no sertão paraibano. **Revista verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável**, v.6 n.1, 2011.

SOUZA, G. N.; et al. Contagem de Células Somáticas (CCS) em leite de cabra. Panorama do Leite – Disponível em: <<http://www.cileite.com.br /panorama/qualidade10.html>> **Embrapa Gado de Leite**, ano 2, n.10, ago.2007.

VANOIRBEECK, S. J. et al., Unique stress response to the lactoperoxidase- thiocyanate enzyme system in *Escherichia coli*. **Research. Microbiology.**, n. 156, p. 225 – 232, 2005.

VILANOVA, M.; et al. Aspectos sanitários do úbere e composição química do leite de cabras Saanen. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.36, n.3, p.235-240, 2008.

WOLFSON, L. M.; SUMNER, S. S. Antibacterial activity of the lactoperoxidase system: a review. **Jornal Food Protection**, n. 56, p.887-892, 1993.

ZOCCAL, R.; GOMES, A. T. Zoneamento da produção de leite no Brasil. **In: Congresso da Sociedade Brasileira de Economia e Sociologia Rural**, 53., Ribeirão Preto, 2005.

Qualidade do leite de cabras Saanen em lactação alimentadas com feno de maniçoba

Resumo - Altas contagens de células somáticas e altas contagens bacterianas estão relacionadas com problemas de saúde da glândula mamária e de higiene na ordenha, e podem trazer prejuízos para indústria, assim como para a saúde pública. O sistema lactoperoxidase atua diretamente sobre a saúde da glândula mamária gerando íons hipotiocianato, composto de ação bactericida, cujas concentrações dependem, entre outros fatores, da presença na dieta de plantas ricas em glicosídeos cianogênicos. Objetiva-se com o presente trabalho avaliar a qualidade do leite de cabras Saanen em lactação alimentadas com feno de maniçoba. Foram utilizadas sete cabras Saanen, com $39 \pm 2,9$ dias de lactação e peso corporal médio de $43,3 \pm 7,6$ kg em um delineamento estatístico quadrado latino 4×4 . Os tratamentos consistiram da substituição do feno do capim tifton por feno de maniçoba (0; 33,3; 66,7 e 100%). As concentrações de íons tiocianato, gordura, proteína, lactose, sólidos totais e extrato desengordurado no leite não foram influenciadas ($P < 0,05$) pela substituição do feno de tifton por feno de maniçoba nem pelo conservante. A CCS foi menor ($P < 0,05$) nas amostras sem conservante e foi influenciada de forma quadrática ($P < 0,0001$) pela substituição do feno de tifton por feno de maniçoba. A contagem de bactérias totais aumentou significativamente nas amostras de leite sem conservante, mas não foi influenciada pela substituição do feno de tifton por feno de maniçoba.

Termos para indexação: células somáticas, citometria de fluxo, espectrofotometria, *Manihot pseudoglaziovii*

Milk quality of lactating Saanen goats fed hay maniçoba

Abstract - High somatic cell counts and high bacteria counts are related to health problems of the mammary gland and milking hygiene, what can bring harm to the industry, as well as to public health. The lactoperoxidase system acts directly on the mammary gland health generating hypothiocyanate ions, a bactericidal compound, wich concentrations depend, among other factors, on the presence of plants in the diet rich in cyanogenic glycosides. The objective of this study was to evaluate the quality of the milk in lactating Saanen goats fed maniçoba hay. Seven Saanen goats were used, with $39 \pm 2,9$ days of lactation and body weight $43,3 \pm 7,6$ kg in an statistical Latin square design 4×4 . The treatments consisted of the replacement of the Tifton hay by maniçoba hay (0; 33,3; 66,7 and 100%). The concentrations of thiocyanate ions, fat, protein, lactose, total solids and dry extract in milk were not affected ($P < 0,05$) neither by the substitution of tifton hay for maniçoba nor by the preservative. The SCC was lower ($P < 0,05$) in samples without preservative and was quadratic affected of ($P < 0,0001$) by the substitution of tifton hay for maniçoba. The total bacteria count increased significantly in milk samples without preservative, but was not affected by the substitution of tifton hay for the maniçoba hay.

Index terms: somatic cells, flow cytometry, spectrophotometry, *manihot pseudoglaziovii*

INTRODUÇÃO

A inocuidade do leite é fundamental para consumo humano, assim como para seu processamento em queijo, iogurte e outros produtos. Para se obter um leite que atenda a esse requisito, tanto a saúde da glândula mamária, quanto a higiene da ordenha são fatores preponderantes, uma vez que infecções da glândula mamária interferem na composição do leite e na contagem de células somáticas (CCS).

Dentre os fatores que interferem na composição do leite e na CCS destaca-se a mastite, uma das enfermidades mais comuns em rebanhos caprinos leiteiros (CONTRERAS et al., 2007; MOTA, 2008; VILANOVA et al., 2008) e é considerada a enfermidade que mais prejuízos traz à atividade leiteira em todo mundo (FREITAS et al., 2005; CARNEIRO et al., 2009).

Existe na glândula mamária um sistema complexo que pode inativar os microrganismos, destacando-se quatro proteínas mais comuns: lactoperoxidase, lactoferrina, lisozima e xantina oxidase. A lactoperoxidase forma um sistema antimicrobiano com peróxido de hidrogênio e tiocianato. Esse sistema é conhecido como Sistema Lactoperoxidase (SLP), que é composto pela enzima lactoperoxidase (LP), uma proteína sintetizada na glândula mamária por íons tiocianato (SCN^-), originados do metabolismo hepático, e por peróxido de hidrogênio (H_2O_2), derivado da atividade dos leucócitos e de outras células (SERMON et al., 2005; VANOIRBEEK et al., 2005). Esse sistema é um mecanismo de defesa natural, presente no leite da glândula mamária comum aos mamíferos (ZAPICO et al., 1991) e que gera íons hipotiocianato, que tem função antibacteriana no leite (AL-BAARRI et al., 2012).

Segundo Kussendrager & Hooijdonk (2000), as concentrações de tiocianato em leite são reflexos das concentrações sanguíneas, as quais variam de acordo com a raça, saúde do úbere, fatores fisiológicos, tipos de alimentos e regime de alimentação.

Plantas da família *Euphorbiaceae*, do gênero *Manihot*, destacando-se a mandioca (mais conhecida) e a maniçoba, encontradas do Piauí até a Bahia (TOKARNIA et al., 2000), são conhecidas no Nordeste brasileiro como causadoras de mortes em ruminantes, devido à presença de glicosídeos cianogênicos, que ao serem hidrolisados, mediante a ação da enzima linamarase, dão origem ao ácido cianídrico, que, por hidrólise, produz cianeto (KERESZTESSY et al., 2001; SIRITUNGA & SAYRE, 2003). Dependendo da quantidade ingerida por um animal, o ácido cianídrico pode provocar intoxicação, principalmente em ruminantes. A quantidade de glicosídeos cianogênicos varia de acordo com a espécie, parte da planta, estágio vegetativo e condições ambientais, tais como solo, umidade, temperatura etc. (OKIGBO, 2004). Os glicosídeos também são degradados por enzimas microbianas do rúmen e são rapidamente absorvidos pelo rúmen (MAJAK & CHENG, 1984), que em uma reação com tiocisteína ou tiosulfato (produto metabólico dos aminoácidos sulfurados) é neutralizado e convertido em tiocianato.

Wanapat (2003) recomenda dois a três dias de sol para eliminar mais do que 90% do ácido cianídrico e aumentar a palatabilidade e o tempo de conservação destas plantas. O fígado e os rins de animais são as principais fontes de rodanase, que participa na desintoxicação do cianeto (DRAKSHAN VAZIRI & AMINLARI, 2004). O tiocianato proveniente do alimento é eliminado principalmente através da urina, mas também através do leite (SOTO – BLANCO & GÓRNIK, 2003), quando vai favorecer a eficiência do SLP, que precisa de, aproximadamente, 14,5 mg/L de leite para ativação do sistema como antibacteriano (PONCE, 2012).

Além da ação SLP, recomenda-se a utilização de mecanismo de preservação no leite, como: conservantes (bactericidas e bacteriostáticos) e a refrigeração nas amostras de leite que seguem para análise, pois a distância da coleta até o laboratório pode levar horas e sendo

assim o uso desses mecanismos se faz necessário, obtendo-se a integridade das amostras de leite até as análises nos equipamentos, respeitando o período de armazenamento que não deve ultrapassar 72 horas.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade do leite de cabras Saanen em lactação alimentadas com feno de maniçoba.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Caprino-ovinocultura do Departamento de Zootecnia (DZ), na Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) - Recife-PE.

Foram utilizadas sete cabras da raça Saanen em lactação, com peso corporal (PC) médio de $43,3 \pm 7,6$ kg e $39,0 \pm 2,9$ dias de lactação, sincronizadas, para garantir a homogeneidade no período de lactação, casqueadas e vacinadas contra clostridiose.

Após o parto, as cabras foram identificadas, pesadas, receberam tratamento contra ecto e endoparasitos e foram alojadas em gaiolas metabólicas de madeira, medindo $1,10 \text{ m}^2$, providas de comedouro e bebedouro. Os animais foram distribuídos aleatoriamente nos tratamentos, que consistiam da substituição do feno de tifton por feno de maniçoba nos níveis 0; 33,3; 66,7 e 100%. Utilizou-se um delineamento estatístico quadrado latino 4×4 . Os períodos experimentais consistiram de 21 dias cada, sendo os 14 primeiros para adaptação e os sete dias restantes para coleta de dados, totalizando 84 dias de experimentação.

As dietas foram calculadas de acordo com o NRC (2007), para satisfazer as exigências nutricionais de cabras em lactação, com peso médio de 43 kg e produção média diária de 2,0 litros de leite, e foram compostas por feno de tifton (*Cynodon spp*), feno de maniçoba (*Manihot pseudoglaziovii*), palma miúda (*Nopalea cochenillifera* Salm Dyck) e uma mistura concentrada composta por milho (*Zea mays* L), farelo de soja (*Glycine max* L.), sal mineral,

calcário e ureia. As composições químicas dos ingredientes e das dietas encontram-se nas Tabelas 1 e 2, respectivamente.

Tabela 1. Composição química dos ingredientes das dietas experimentais

Componentes	Composição química dos ingredientes (g/kg MS)				
	Milho	Farelo de Soja	Palma	Feno de Maniçoba	Feno de Tifton
Matéria seca	88,8	88,8	9,0	91,3	91,5
Matéria orgânica	98,3	93,1	82,9	92,1	92,1
Matéria Mineral	1,6	6,9	17,1	7,9	7,9
Proteína bruta	8,2	46,5	4,5	8,8	7,6
Extrato etéreo	5,1	1,6	1,9	3,7	2,3
Fibra em detergente neutro	9,7	18,2	21,8	57,2	75,0
Fibra em detergente ácido	2,2	5,3	11,7	35,9	33,8
Lignina	0,3	0,3	1,5	10,9	4,42
Hemicelulose	7,5	13	10,1	23,4	39,1
Celulose	1,9	5,0	10,1	22,9	31,5
Carboidratos totais	85	45,1	76,6	79,6	82,2
Carboidratos não fibrosos	75,3	26,9	54,7	22,3	7,2
HCN (mg/Kg MS)	0,0	0,0	0,0	17,7	0,0

HCN: ácido cianídrico

O feno de maniçoba foi confeccionado na Estação experimental São João do Cariri, da Universidade Federal da Paraíba - Campus Areia, com material na fase de frutificação, sendo composto por folhas e quantidade significativa de ramos. O material foi triturado em máquina forrageira e espalhado em lonas plásticas, sendo revirado frequentemente para desidratação até o ponto de feno.

O feno de tifton foi adquirido em casas do comércio local. Os fenos foram triturados em máquina forrageira com peneira de crivo de 8 mm, a fim de reduzir a seleção por parte dos animais, misturados com os demais ingredientes e fornecidos na forma de ração completa.

A palma miúda (*Nopalea cochenillifera* Salm Dyck) foi colhida a cada duas semanas, adquirida de um único fornecedor do município de Lagoa de Itaenga – PE, sendo transportada para o Departamento de Zootecnia (DZ) da UFRPE, e armazenada em local coberto e fresco.

Para seu fornecimento, foi picada em máquina forrageira no momento de cada refeição e devidamente associada aos demais ingredientes de acordo com os tratamentos experimentais (Tabela 2).

Tabela 2. Composição percentual dos ingredientes e composição química das dietas experimentais

Alimentos (% na MS)	Níveis de substituição do feno de tifton por feno de maniçoba (%)			
	0	33,3	66,7	100
Milho triturado	16,0	17,0	17,0	17,0
Farelo de soja	12,0	11,0	10,0	9,0
Palma forrageira	40,0	40,0	41,0	42,0
Feno de tifton	30,0	20,0	10,0	0,0
Feno de Maniçoba	0,0	10,0	20,0	30,0
Sal mineral ¹	0,7	0,7	0,7	0,7
Calcário	0,3	0,3	0,3	0,3
Ureia	1,0	1,0	1,0	1,0
Composição química (g/Kg MS)				
Matéria seca	57,9	57,9	57,1	56,0
Matéria orgânica (MO)	88,7	88,7	88,6	88,5
Matéria Mineral (MM)	11,3	11,2	11,3	11,4
Proteína bruta (PB)	13,6	13,3	13,0	12,7
Extrato etéreo (EE)	2,4	2,6	2,7	2,9
Fibra em detergente neutro (FDN)	35,0	33,1	31,4	29,6
Fibra em detergente ácido (FDA)	16,4	16,2	16,0	15,9
Lignina	2,0	2,7	3,3	3,4
Hemicelulose	18,5	16,9	15,3	13,7
Celulose	14,4	13,5	12,7	11,9
Carboidratos totais (CHT)	74,3	74,4	74,5	74,5
Carboidratos não fibrosos (CNF)	38,3	39,6	41,4	43,3
Nutrientes Digestíveis Totais (NDT)	70,0	67,3	68,6	69,3

¹Composição: Cálcio (13%); Fósforo (7,58%); Magnésio (0,5%); Ferro (0,15%); Cobalto (0,01%); Cobre (0,02%); Manganês (0,1%); Zinco (0,2%); Iodo (0,006%); Selênio (0,001%); Enxofre (1,4%); Sódio (15,1%); Cloro (24,5%) e Flúor (0,075%).

A alimentação foi fornecida *ad libitum*, em duas refeições (8:00 e 16:00 h), na forma de mistura completa, cujos consumos médios encontram-se na Tabela 3. Água limpa foi disponibilizada à vontade durante todo o período experimental.

Tabela 3. Consumo de matéria seca e de nutrientes, em função dos níveis de substituição do feno de tifton pelo feno de maniçoba

Consumo	Níveis de substituição (%)			
	0	33,3	66,7	100
MS (kg/dia)	2,0	2,0	1,9	2,0
MO (g/dia)	1,7	1,7	1,7	1,7
PB (g/dia)	258,9	258,5	239,1	243,6
EE (g/dia)	52,6	57,0	58,3	64,2
FDN (g/dia)	635,3	592,5	547,4	522,1
CHT (kg/dia)	1,5	1,5	1,4	1,5
CNF (kg/dia)	0,8	0,9	0,9	1,0
NDT (kg/dia)	1,4	1,4	1,3	1,4
HCN (mg/dia)	0,0	3,5	6,8	10,7

As ordenhas foram realizadas manualmente, duas vezes ao dia (07:00 e 15:00 h), sempre pelo mesmo ordenhador, após higienização e desinfecção dos tetos, utilizando-se água corrente, sabão neutro e solução pré e pós *dipping* (iodo glicerinado a 2%).

Durante os dias de coleta, o leite de cada animal, em cada uma das ordenhas, foi homogeneizado e retiradas três alíquotas, acondicionadas em três frascos estéreis de polietileno padronizados de 40 mL. Um dos frascos continha Bronopol® (2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol) (D&F Control System Inc., U.S.A.), no outro Azidiol® (azida sódica e cloranfenicol) e o terceiro frasco não continha produto químico. As amostras conservadas com bronopol e azidiol foram utilizadas para determinação da composição química (teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e extrato seco desengordurado e contagem de células somáticas (CCS)) e para contagem bacteriana total (CBT), respectivamente. A composição química foi analisada por infravermelho próximo e CCS e CBT, por citometria de fluxo, no Laboratório do Programa de Gerenciamento de Rebanhos Leiteiros do Nordeste (PROGENE),

do Departamento de Zootecnia, da UFRPE. A terceira amostra foi enviada ao Laboratório de Biologia Molecular Aplicada a Produção Animal – BLOPA, no DZ, para determinação do íon tiocianato no leite (anexo A), segundo metodologia descrita pelo *Codex alimentarius* (1991). Já para determinação do teor de ácido cianídrico (HCN), foi adotada a metodologia descrita por Ades Totah (1986), (anexo B).

Antes do arraçamento, foi coletada uma amostra de sangue, através de punção da veia jugular, utilizando-se agulhas descartáveis 40 x 12 mm e deposição em frasco de vidro tipo *vacutainer* contendo 0,05 mL de uma solução aquosa a 10% de etileno-diamino-tetracetato de sódio (EDTA) para cada cinco mL de sangue colhido. As amostras eram mantidas em isopor com gelo até sua chegada ao Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário-UFRPE, onde se efetuou análise para hemograma completo (série branca e vermelha).

Para avaliação da conservação do leite, foram tomadas quatro amostras, que foram acondicionadas, em dois frascos contendo conservante (Bronopol, para CCS e composição, e Azidiol para CBT) e dois sem conservante. Os frascos foram armazenados sob refrigeração (1 a 4,5°C) por 24 horas. As análises para determinação da composição química, CCS e CBT foram feitas como descrito anteriormente.

Por não apresentar distribuição normal, os dados de CCS foram transformados para escala de escore de células somáticas (ECS), baseados em Shook & Schutz (1994), em que $ECS = \log_2 (CCS/100) + 3$.

Os dados foram submetidos à análise de variância e regressão, utilizando-se o procedimento General Linear Models (GLM), do programa Statistical Analysis System (SAS INSTITUTE, 2009).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não se observou alteração patológica e nem sinal de intoxicação nos animais, possivelmente, porque o consumo de HCN foi mais baixo do que a dosagem considerada tóxica, que é de 2 a 4 mg de HCN/kg de peso corporal/hora (TOKARNIA et al., 2000).

Os teores de SCN^- variaram de 14,54 a 17,02 mg/L e não foram influenciados pela substituição do feno de tifton por feno de maniçoba (Tabela 4), embora o consumo de ácido cianídrico tenha variado de 0,0 a 10,7 mg/dia, em função do nível de maniçoba na dieta. O teor de tiocianato no leite de cabra é afetado por muitos fatores, incluindo os animais como indivíduo, estágio de lactação, raça e alimentação (ZAPICO et al., 1991; FONTEH et al., 2002). A literatura relata teores de SCN^- no leite de cabra variando de 0,67 mg/L a 14,96 mg/L (ZAPICO et al., 1990; SAAD DE SCHOOS et al., 1999; FONTEH et al., 2002; SEIFU et al., 2004).

A concentração média de SCN^- no leite, verificada no presente trabalho (15,67 mg/L), é semelhante aos valores mais altos relatados na literatura, os quais estão relacionados com presença de mastite, e à concentração (14,5 mg/L) relatada por Ponce (2012) como o nível de ativação do sistema lactoperoxidase em vacas.

Tabela 4. Valores médios da concentração do íon tiocianato (SCN^-) e contagem de células somáticas (CCS) em função da substituição de feno de tifton por feno de maniçoba

Componentes	Nível de substituição (%)				EPM	P>	
	0,0	33,3	66,7	100		L	Q
SCN^- (mg/L)	14,5	17,0	15,2	16,0	0,7504	0,4969	0,5511
CCS (cel/mL*1000)	819,9	868,6	710,1	425,7	125,3360	0,0167	0,0039

EPM= Erro Padrão Médio; L=Linear; Q=Quadrática; P=Significância

A CCS variou de 425.750 a 868.640 células/mL e foi influenciada pela substituição do feno de tifton por feno de maniçoba de forma quadrática ($P < 0,05$).

A Instrução Normativa 37 (BRASIL, 2000) não define a quantidade de células somáticas que caracterize a saúde da glândula mamária quanto à presença de mastite clínica e/ou subclínica em cabras e a literatura é controversa nesse aspecto. Segundo Haenlein (2001), a quantidade de CCS no leite de cabra deve ser inferior a um milhão de células/mL. Já McDougall et al. (2001) descrevem que a CCS no leite de cabras livres de infecção intramamária é, em geral, inferior a 400.000 células/ml. No entanto, segundo Paape et al. (2001), valores de 270 a 2.000.000 células/mL de leite correspondem à ausência de mastite e são compatíveis com animais saudáveis.

Considerando a CCS observada no presente trabalho, é possível que esses animais estivessem com mastite subclínica, por isso foram verificados altos valores de SCN^- no leite e de leucócitos e neutrófilos no leucograma (Tabela 5).

A atividade dos micro-organismos no interior da glândula mamária libera substâncias que estimulam a migração de leucócitos a fim de combater os agentes agressores aumentando, dessa maneira, a CCS (MACHADO et al.,1999). Devido a isso, Tsenkva et al. (2001) relataram que a CCS presente na secreção láctea é um bom indicador da saúde da glândula mamária, que pode ser utilizado amplamente como indicador de mastite subclínica, o que pode ser aceita, também, como medida padrão para determinar a qualidade do leite.

Apenas os leucócitos foram afetados de forma quadrática ($P < 0,05$) pela substituição do feno de tifton por feno de maniçoba (Tabela 5). Em todos os tratamentos, tanto os leucócitos totais quanto os neutrófilos encontravam-se acima dos valores estabelecidos como referência para espécie caprina, o que sugere uma resposta a um processo inflamatório. Os leucócitos, células com função fagocítica, associados a fatores humorais presentes na glândula mamária, representam importantes meios de defesa do canal das tetas e das cisternas no úbere, estando presente e em maior concentração no leite, independente do estado da glândula

mamária (BARBOSA et al., 2000).

Na mastite, a glândula mamária é colonizada por bactérias, as defesas imunológicas do úbere são ativadas e grandes números de leucócitos polimorfos nucleares migram do sangue para a glândula mamária. Conseqüentemente, o número dessas células no leite aumenta e o processo de filtração e síntese do leite é modificado, levando a alterações na sua composição (PIRISI et al., 2007), o que influencia o rendimento do produto final.

Os neutrófilos são células envolvidas nas respostas imunes não específicas e são os primeiros a chegarem ao local da lesão. Esses leucócitos têm como mecanismo básico de ação a fagocitose e posterior destruição dos agentes estranhos via mecanismos enzimáticos ou dependentes de oxigênio (FELDMAN et al., 2000).

Verificou-se que a hemoglobina encontrava-se abaixo dos valores de referência para a espécie caprina (Tabela 5), o que pode indicar, juntamente com a variação nos leucócitos totais e neutrófilos, uma resposta imunológica do animal às condições às quais foram submetidos. A concentração de hemoglobina no sangue determina a capacidade de oxigenação dos tecidos e, a partir dela, pode-se determinar o tipo de anemia que o animal apresenta (NORIEGA, 2000).

Tabela 5. Hemograma de cabras em lactação em função do nível de substituição de feno de tifton por feno de maniçoba

Componentes	Nível de substituição (%)				EPM	P >		Valores de referência *
	0,0	33,3	66,7	100		L	Q	
Hemácias (10 ⁶ /mm ³)	12,34	12,92	12,34	12,64	0,4388	0,6068	0,6390	8 - 18
Hemoglobina (%)	6,40	6,63	6,75	6,45	0,2025	0,1357	0,1480	8- 12
Hematócrito (%)	23,75	25,00	24,00	24,75	0,5810	0,7011	0,7978	22 -38
VCM (fL)	19,20	19,33	19,53	19,75	0,1875	0,9102	0,9359	16 -25
CHCM (%)	27,38	26,63	26,60	26,08	0,3125	0,5961	0,5729	30 -36
Leucócitos Totais	15.400,00	13.600,00	13.925,00	14.175,00	387,2445	0,0431	0,0724	4000 – 13.000
Eosinófilo (mm ³)	463,00	836,25	678,75	295,75	117,0707	0,2575	0,1889	50 - 650
Neutrófilo (mm ³)	9.403,50	8.868,00	8.092,00	9.309,75	418,5173	0,3350	0,3507	1.200 – 7.200
Linfócito (mm ³)	4.137,50	3.513,75	5.081,75	4.957,00	414,8674	0,9772	0,6961	2.000 – 9.000

VCM: Volume Corpuscular Médio; CHCM: Concentração Hemoglobínica Corpuscular Média

EPM= Erro Padrão Médio; L=Linear; Q=Quadrática; P=Significância

*Fonte: Aiello (2001).

Os teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais, extrato seco desengordurado e CBT (Tabela 6) não sofreram influência da substituição do feno de tifton por feno de maniçoba. Os valores médios de proteína (2,30 %), lactose (4,22 %) e ESD (7,59 %) apresentaram-se inferiores ao estabelecido pela IN37 do MAPA (BRASIL, 2000), tendo como limites mínimos 2,8; 4,3 e 8,2%, respectivamente. As variações dos sólidos totais no leite acompanham o comportamento da concentração de gordura, já que apresentam correlação alta (0,82) com os teores de gordura do leite (ZENG, et al., 1997).

O conteúdo proteico varia muito com a espécie e é influenciado por raça, estágio de lactação, alimentação, clima, parto, época do ano e estado de saúde do úbere (SILVA, 1997; GUO, 2003).

Araújo (2005), em experimento com cabras da raça Moxotó alimentadas com níveis crescentes de feno de maniçoba, encontrou para o teor de lactose, valor médio de 4,48%, valor esse superior ao resultado encontrados neste estudo.

Independentemente da dieta que o animal recebeu, a CBT encontrava-se acima do limite máximo (500.000 UFC/mL) estabelecido pela IN37 e não foi influenciada pela substituição do feno de tifton por feno de maniçoba.

Avaliando-se o efeito do conservante, verificou-se aumento de 57% na CBT das amostras sem conservante. Vale ressaltar que as amostras com e sem conservante foram armazenadas, imediatamente após a ordenha, sob refrigeração, a 7,0 °C por 24 horas. Foi utilizado o conservante azidiol por apresentar ação bacteriostática e sendo o mais recomendado em amostras destinadas à contagem bacteriana total por citometria de fluxo (GARNICA; SANTOS; GONZALO, 2011). Os resultados deste trabalho corroboraram os encontrados por Cassoli et al., (2010), que verificaram CBT mais alta nas amostras sem conservante e refrigeradas por 24 horas.

Tabela 6. Composição química, contagem bacteriana total (CBT) e contagem de células somáticas (CCS) no leite de cabra, em função do nível de substituição do feno de tifton por feno de maniçoba e da presença ou não de conservante no leite de cabra

Componentes	Nível de substituição (%)								EPM	P>		
	0,0		33,3		66,7		100			Conservante	Maniçoba	
	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem			L	Q
Gordura (g/100g)	3,18	3,38	3,29	3,36	3,23	3,29	3,28	3,15	0,0440	0,3867	0,6665	0,4683
Proteína (g/100g)	2,24	2,27	2,43	2,37	2,26	2,32	2,27	2,26	0,0442	0,8983	0,0943	0,0630
Lactose (g/100g)	4,15	4,22	4,26	4,24	4,22	4,21	4,25	4,23	0,0201	0,8872	0,2230	0,3911
Sol.Totais(g/100g)	10,62	10,94	11,07	11,05	10,76	10,89	10,86	10,70	0,0940	0,5153	0,1911	0,1327
ESD (g/100g)	7,44	7,56	7,78	7,69	7,54	7,60	7,58	7,55	0,0617	0,8189	0,0743	0,0679
CBT (ufc/mL)	773,13	1.595,26	895,68	1.262,76	1.074,79	1.443,70	748,88	1.172,74	77,7489	<0,0004	0,6407	0,4632
CCS (cel/mL*1000)	775,40	625,99	784,92	749,31	728,33	632,88	465,65	395,65	65,7581	0,0342	<0,0001	<0,0001

ESD = Extrato Seco Desengordurado; EPM= Erro Padrão Médio; P=Significância

Independentemente da dieta que o animal recebeu, a CBT encontrava-se acima do limite máximo (500.000 UFC/mL) estabelecido pela IN37 e não foi influenciada pela substituição do feno de tifton por feno de maniçoba.

Avaliando-se o efeito do conservante, verificou-se aumento de 57% na CBT das amostras sem conservante. Vale ressaltar que as amostras com e sem conservante foram armazenadas, imediatamente após a ordenha, sob refrigeração, a 7,0 °C por 24 horas. Foi utilizado o conservante azidiol por apresentar ação bacteriostática e sendo o mais recomendado em amostras destinadas à contagem bacteriana total por citometria de fluxo (GARNICA; SANTOS; GONZALO, 2011). Os resultados deste trabalho corroboraram os encontrados por Cassolli et al., (2010), que verificaram CBT mais alta nas amostras sem conservante e refrigeradas por 24 horas.

A presença de microrganismos no leite está diretamente relacionada com o estado de saúde e higiene das cabras, com o ambiente do galpão, da ordenha e dos procedimentos usados para limpeza dos utensílios que entram em contato com o leite. De grande importância é também a temperatura e o período de tempo em que o leite é armazenado. Se o leite não é refrigerado rapidamente após a ordenha, a população bacteriana poderá aumentar atingindo números elevados que podem levar à deterioração.

A boa qualidade do leite é definida, entre outros aspectos, pelo baixo número de microrganismos deteriorantes, ausência ou pequeno número de patógenos, baixa contagem de células somáticas e ausência de resíduos químicos variados (ALVES, 2001). Segundo Bueno et al.(2005), a contagem bacteriana total (CBT) do leite cru auxilia na avaliação dos procedimentos de ordenha e armazenamento e, ao mesmo tempo, permite inferir acerca dos prováveis efeitos adversos sobre o rendimento industrial e a segurança alimentar do leite.

CONCLUSÕES

O feno de maniçoba não influencia a concentração do íon tiocianato no leite.

O feno de maniçoba influencia a contagem de células somáticas no leite de cabras Saanen.

Recomenda-se a utilização dos conservantes bronopol e azidiol, como agentes bacteriostáticos, nas amostras de leite cru de cabras, destinadas às análises de CCS e CBT, respectivamente, mesmo que as amostras sejam mantidas sob refrigeração.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADES TOTAH, J. J. y LUIS, F. H. Presencia de ácido cianhídrico en forrages cultivados en México. **Agricultura Técnica en México**, México, 12: 77-90, 1986.

AIELLO, S. E. **Manual Merck de Veterinária**. 8.ed. São Paulo: Roca, p.1861, 2001.

AL-BAARRI, A. N. et al. Lactoperoxidase immobilized onto various beads for producing natural preservatives solution. **Journal of Applied Food Technology**. v.1, n.1, p. 4 – 6, 2012.

ALVES, F. S. F. Análise de Pontos Críticos (PC) durante a ordenha manual e mecânica na qualidade do leite de cabra in natura. **Comunicado Técnico** n. 58 p.4 EMBRAPA, Sobral, 2001.

ARAÚJO, M. J. Feno de maniçoba (*Manihot glaziovii* Muell. Arg) em dietas para cabras da raça Moxotó em lactação. Areia, PB: Universidade Federal da Paraíba – UFPB, 2005. 81p. **Dissertação (Mestrado em Zootecnia)** – Centro de Ciências Agrárias/ Universidade Federal da Paraíba, 2005.

BARBOSA, G. M. O.; et al. Contagem total e diferencial de leucócitos no leite de cabra da raça Saanen sem sinais clínicos de mastite. **Ciência Animal**, 11(2): p.73-77, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite de Cabra. Instrução Normativa nº 37 de 31 de outubro de 2000**. Diário Oficial da União, Brasília, 8 de novembro de 2000.

BUENO, V. F. F.; et al. Contagem celular somática: relação com a composição centesimal do leite e período do ano no Estado de Goiás. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.4, p.848-854, jul-ago, 2005.

CARNEIRO, D. M. V. F.; DOMINGUES, P. F.; VAZ, A.K. Imunidade inata da glândula mamária bovina: resposta à infecção. **Ciencia Rural**, v.39, n.6, p.1934-1943 2009.

CASSOLI, L. D.; MACHADO, P. F.; COLDEBELLA, A. Métodos de Conservação de Amostras de leite de para determinação da Contagem bacteriana total por citometria de Fluxo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa , v. 39, n. 2, Feb. 2010 .

CODEX ALIMENTARIUS. Directrices para la conservación de la leche cruda mediante la aplicación del Sistema de la lactoperoxidasa. **Guía del CAC/GL 13-1991**. Apéndices 3. Análisis de tiocianato en la leche (1991).

CONTRERAS, A.; et al. Mastitis in small ruminants. **Small Ruminant Research**, v.68, p.145-153, 2007.

DRAKSHAN VAZIRI, S.; AMINLARI, M. Cyanide on the Level of Rhodanese in Different Tissues of Mice. Department of Biochemistry, **School of Veterinary Medicine**, Shiraz University, 2004.

FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**, 5.ed., Philadelphia: Williams & Wilkins, 1344p., 2000.

FONTEH, F.A., GRANDISON, A.S.; LEWIS, M.J. Variations of lactoperoxidase activity and thiocyanate content in cows' and goats' milk throughout lactation. **Journal of Dairy Research**. v.69 p.401 – 409, 2002.

FREITAS, M. F. L. et al. Perfil de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de *Staphylococcus coagulase positivos* isolados de leite de vacas com mastite no agreste do estado de Pernambuco. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.72, n.2, p.171- 177, 2005.

GARNICA, M.L.; SANTOS, J.S.; GONZALO, C. Short communication: Influence of storage and preservation on microbiological quality of silo ovine milk. **Journal of Dairy Science**. v.94, n.4, p.1922-1927, 2011.

LINS, N.B.O. Qualidade do leite de cabras Saanen em lactação alimentadas com feno de maniçoba

GUO, M. Goat's milk, p. 2944–2949. In: Caballero B., Trugo L. & Finglas P. **Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. Academic Press**, London, 2003.

HAENLEIN, G. F. W. Goat milk somatic cell count situation on the United States. <http://www.dawog.net/Goats/DCE/gm-11.htm>. Acessado em: 2013. (2001).

KERESZTESSY, Z. K. et al. Identification of essential active-site residues in the cyanogenic Bglucosidase (linamarase) from cassava (*Manihot esculenta*, Crantz) by site-directed mutagenesis. **Biochemical Journal** 353:199-205, 2001.

KUSSENDRAGER, K. D.; HOOIJDONK M., A. C. Van. Lactoperoxidase: Physico-Chemical properties, occurrence, mechanism of action and application. **British Journal Nutrition**, Cambridge, n. 84, p.519-525, 2000.

MACHADO, P.F.; PEREIRA, A.R.; SARRIÉS, G.A. Efeitos da contagem de células somáticas na qualidade do leite e a atual situação de rebanhos brasileiros. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.54, n.309, p.10-16, 1999.

MAJAK, W.; CHENG, K.J. Cyanogenesis in bovine rumen fluid and pure cultures of rumen bacteria. **Journal Animal Science** 59:784-790, 1984.

McDOUGALL, S. et al. Relationships among somatic cell count, California mastitis test, impedance and bacterial status of milk in goats and sheep in early lactation. **Small Ruminant Research**, v.40, n.3, p.245-254, 2001.

MOTA, R. A. Aspectos epidemiológicos, diagnóstico e controle das mastites em caprinos e ovinos. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.2, n.3, p.57-61, 2008.

NORIEGA, M. L. V. C. **Apuntes de hematología Aviar. México**, Universidad Nacional Autónoma, p.70, 2000.

NRC. Exigências nutrientes de pequenos ruminantes: ovinos, caprinos, cervídeos, e camelídeos do Novo Mundo. **National Academies Press**, Washington, DC. 2007.

OKIGBO, R. N. The case for cassava (*Manihot esculenta*, Crantz) in the humid tropics of West Africa. **Nutritional implication of projects giving high priority to the production of staples of low nutritive quality**. 2004.

PAAPE, M.J.; POUTREL, B.; CONTRERAS, A. et al. Milk somatic cells and lactation in small ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.84, E.Suppl., E237-E244, 2001.

PIRISI, A.; LAURET, A.; DOBEUF, J. P. Basic and incentive payments for goat and sheep milk in relation to quality. **Small Ruminant Research**. v.68, p. 167-178, 2007.

PONCE, P. Thiocyanate content in raw milk under the american tropic conditions in relation to the activation of the lactoperoxidase system. **Revista de Salud Animal**, v.34, n.2, p.115 – 119, 2012.⁴⁹

SAAD DE SCHOOS, S., OLIVER, G. and FERNANDEZ, F.M., Relationships between lactoperoxidase system components in Creole goat milk. **Small Ruminant Research** v.32, p. 69-75, 1999.

SEIFU, E. et al. Antibacterial activity of the lactoperoxidase system against foodborne pathogens in Saanen and South African Indigenous goat milk. **Food Control** v.15, p. 447 – 452, 2004.

SERMON, et al., Unique stress response to the lactoperoxidase-thiocyanate enzyme system in *Escherichia coli*, **Research in Microbiology**, v.156, p.225 – 232, 2005.

SHOOK, G.E.; SCHUTZ, M.M. Selection on somatic cell score to improve resistance to mastitis in the United States. **Journal Dairy Science**, v.77, p.648-658, 1994.

SILVA P. H. F. Leite: aspectos de composição e propriedades. **Revista Química Nova na**

Escola (6):3-5, 1997.

SIRITUNGA, D.; SAYRE, R. T. Generation of cyanogen – free transgenic cassava. **Planta**. 217: 367-373. 2003.

SOTO-BLANCO, B.; GÓRNIAK, S. L. Milk transfer of cyanide and thiocyanate: Cyanide exposure by lactation in goats. **Veterinary Research**. 34: 213-220, 2003.

TOKARNIA, C. H.; et al. Plantas tóxicas do Brasil. Ed. Helianthus, Rio de Janeiro. **Plant cyanogenic glycosides**. *Toxicon*, p. 215-221. v38:11; 2000.

TSENKOVA, R.; ATANASSOVA, S.; KAWANO, S. Somatic cell count determination in cow's milk by near-infrared spectroscopy: A new diagnostic tool. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.71, p.534-538, 2001.

VANOIRBEECK, S. J. et al. Unique stress response to the lactoperoxidase-thiocyanate enzyme system in *Escherichia coli*. **Research in Microbiology**, n. 156, p.225-232, 2005.

VILANOVA, M. et al. Aspectos sanitários do úbere e composição química do leite de cabras Saanen. **Acta Scientiae Veterinarie**. 36(3): 235-240, 2008.

WANAPAT, M. Role of cassava hay as animal feed in the tropics. **Use of Cassava as Animal Feed**, Available source: <http://www.forum.org>. 2003.

ZAPICO, P., et al. Lactoperoxidase and thiocyanate contents of goats' milk during lactation. **Letters in Applied Microbiology** v.11(2) p.90-92, 1990.

ZAPICO, P., et al. Influence of breed, animal and days of lactation on lactoperoxidase system components in goat milk. **Journal of Dairy Science**. v.74(3) p.783-787, 1991.

ZENG, S.S.; ESCOBAR, E.N.; POPHAM, T. Daily variations in somatic cell count, composition and production of Alpine goat milk. **Small Ruminant Research**, v.26, p.253-260, 1997.

ANEXO A: Determinação do íon tiocianato no leite.

Metodologia

- Realizar a análise em triplicata. A pipetagem é muito importante, deve ser exata, não conter ar, nem deve ser menor que as quantidades orientadas.

- 8 mL de leite fresco;
- Adicionar 4 mL de Ácido Tricloro Acético (TCA) (20% pv);
- Agitar (com agitador vortex) e deixar descansar por 30 min;
- Filtrar (Utilizar filtro de papel Watman de porosidade 40 ou similar).

Enquanto está filtrando, montar a curva de padronização.

- Em um tubo de ensaio adicionar 1 mL da solução mãe e 9 mL de água deionizada. Esse é o padrão com uma concentração de 5 mL de íon tiocianato (SCN^-);
- Em outro tubo de ensaio adicionar 3 mL da solução mãe e 7 mL de água deionizada. Esse é o padrão com uma concentração de 15 mL de íon tiocianato (SCN^-);
- Tomar 2 mL de cada tubo de ensaio (os de concentração 5 e 15 mL) e colocar em três outros tubos de ensaio respectivamente. (2 mL em cada tubo);
- Logo, preparar o Branco, que são 2 mL de água deionizada. (+*reativo de coloração*)

Depois que tiver um filtrado suficiente (deve ser transparente)

- Tomar 2 mL de cada filtrado e colocar no tubo correspondente;
- Adicionar imediatamente (a todos os tubos, começando pelo branco) 2 mL de reativo de coloração;
- Rapidamente agitar bem (com agitador vortex);
- Ler no momento, pois a leitura pode ser alterada após dez minutos de reação.

Ler em espectrofotômetro a 460 nm com uma cubeta de quartzo.

- Primeiramente ler os brancos;
- Ajustar com o branco menor;
- Passar a curva (a de 5 mg/mL e depois a de 15 mg/mL);
- Finalmente passar as amostras e anotar os resultados. (Lembrando que devem se aproximar as densidades óticas das amostras da curva, senão haverá erro na análise).

Realizar os cálculos (Primeiro a média das densidades óticas de todas as amostras e as da

curva).

Fator = Conc. padrão*/ Dens. ótica padrão**

*(Aqui pode trabalhar com a concentração que mais se aproxime das trabalhadas, por exemplo 5 mg/ml, ou pode usar a média da concentração da curva).

** (Deve-se escolher o que mais se aproxima da média).

Uma vez encontrado o fator, multiplica-se pela média das densidades óticas das amostras.

Assim:

mg SCN⁻/L = Fator x densidade ótica (média) amostra.

Esse resultado dará miligramas de tiocianato por litro, porém é necessário transformá-lo em milimoles, e para isso deve-se dividi-lo pelo peso molecular do tiocianato (58). Assim:

mmol/L = mg SCN⁻/L / P.M. (SCN⁻)

Esse cálculo deve dar um resultado que se encontre dentro da classificação estabelecida, são elas:

Média de SCN em uma vaca: 0.05 – 0.60 mmol/L.

Média de SCN em leite misto: 0.10 – 0.17 mmol/L.

Preparação de soluções

1. Solução de Ácido Tricloro Ácético a 20% peso volume (TCA):

Pesar 20g de TCA e dissolver em 100ml de água deionizada. Filtrar e guardar em um frasco hermético com etiqueta correspondente.

2. Reativo de coloração:

Pesar 160 g de nitrato férrico nonahidratado e dissolver em 500 mL de ácido nítrico 2N, completar com água deionizada até formar o volume de 1 litro. Armazenar em frasco âmbar sob refrigeração, com etiqueta correspondente. Utilizar essa solução até que se observe variação significativa na absorbância de brancos e do padrão.

**Antes disso deve preparar o ácido nítrico a 2 Normal. Esse deve ser preparado com muita precaução, sempre trabalhar com baixo fluxo, pois libera muitos vapores.

Cálculos:

Realizam-se tomando como base o HNO₃ de densidade 1,4g/mL e 65% de pureza. No caso de

usar um ácido com outra concentração devem-se realizar os cálculos correspondentes.

Dados:

d (densidade) = 1.4

% = 65

Peso molecular = 63.01

1.4g ----- 100%

Xg ----- 65%

Xg = 0.91g em 1mL de HNO₃ puro

1ml ----- 0.91g

Xml ----- 63.01g

Xml = 69.24 mL de HNO₃ são necessários para preparar 500 mL a 2N.

- Medir HNO₃ (os 69.24 mL) em proveta
- Preparar em um balão volumétrico de 500 mL (tampado)
- Adicionar primeiramente um pouco de água e em seguida o HNO₃, pois é uma reação muito exotérmica. Completar com água até 500 mL.

Esse é o ácido nítrico que será utilizado para preparar o reativo de coloração.

3. Solução mãe: Pode ser preparada a partir do Tiocianato de sódio ou Tiocianato de potássio (eu utilizei o tiocianato de sódio) previamente secado em estufa durante 6 horas a 105 °C. Se usar o tiocianato de sódio pesar 69,8 mg, dissolver e completar com água deionizada até o volume de 1 litro. Armazenar em frasco âmbar em refrigeração e etiquetado.

RESUMINDO:

1. Preparar ácido nítrico a 2N;
2. Com esse ácido preparar o reativo de coloração;
3. Preparar solução mãe;
4. Preparar o TCA 20%;
5. Realizar a análise como descrita acima;
6. Realizar os cálculos.

ANEXO B: Determinação do teor de ácido cianídrico (Ades Totah e Hernandez Luis, 1986)

Soluções:

1. Hidróxido de Sódio (0,5g / 20 ml de água)
2. Hidróxido de Amônio 6N
3. Nitrato de Prata 0,02N
4. Iodeto de Potássio 5% (p/v sol. ác.)

Procedimento:

1. Cortar a forragem em pedaços pequenos e finos possíveis;
2. Pesar 20 g de forragem picada;
3. Depositar em um tubo digestor de 250 mL e adicionar 100 mL de água. Observar para que a forragem umedeça perfeitamente;
4. Colocar em sistema de destilação, com um erlenmeyer de 125 mL com 10 mL da solução de hidróxido de sódio, para coletar o HCN liberado;
5. Deixar que ocorra a hidrólise durante duas horas, observando para que a temperatura no tubo digestor se encontre entre 35-40 °C;
6. Uma vez terminada a hidrólise, deixar que ocorra a destilação (aumentar a temperatura);
7. A destilação termina quando for coletado aproximadamente 60 mL no erlenmeyer;
8. Completar com água destilada a 125 mL, o 60 mL destilado;
9. Retirar alíquotas de 50 mL, adicionar 4 mL do hidróxido de amônio e 1mL da solução de iodeto de potássio. Titular com nitrato de prata até ligeira turbidez.

Cálculos:

1 mL de nitrato de prata (AgNO₃)-----1,08 mg HCN

Volume gasto na titulação (ml) -----X mg HCN

Se 20g Amostra----- X mg HCN

1000 g amostra----- X mg HCN/kg de MS

Exemplo:

1 mL AgNO₃ -----1,08 mg HCN

0,3 mL AgNO₃----- X

X= 0,324 mg HCN

20 g amostra ----- 0,324 mg HCN

1000 g----- X

X=16,2 mg HCN/kg MS