

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

QUALIDADE DO LEITE EM DIFERENTES PROPRIEDADES
LEITEIRAS NO NORTE E OESTE DO PARANÁ

Autor: Monique Figueiredo Paludo
Orientador: Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos
Coorientadora: Profa. Dra. Magali Soares dos Santos Pozza

MARINGÁ
Estado do Paraná
julho – 2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

QUALIDADE DO LEITE EM DIFERENTES PROPRIEDADES
LEITEIRAS NO NORTE E OESTE DO PARANÁ

Autor: Monique Figueiredo Paludo
Orientador: Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos
Coorientadora: Profa. Dra. Magali Soares dos Santos Pozza

"Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de concentração Produção Animal".

MARINGÁ
Estado do Paraná
julho – 2020

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá - PR, Brasil)

P184q

Paludo, Monique Figueiredo

Qualidade do leite em diferentes propriedades leiteiras no norte e oeste do Paraná /
Monique Figueiredo Paludo. -- Maringá, PR, 2020.
92 f.tabs.

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos.

Coorientadora: Profa. Dra. Magali Soares dos Santos Pozza.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências
Agrárias, Departamento de Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2020.

1. Leite in natura de vaca - Qualidade. 2. Leite de vaca - Nitrato e nitrito. 3. Leite de
vaca - Sistema de produção agroecológico. 4. Leite de vaca - Sistema de produção
convencional. I. Santos, Geraldo Tadeu dos, orient. II. Pozza, Magali Soares dos Santos,
coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias.
Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. IV. Título.

CDD 23.ed. 636.234

Elaine Cristina Soares Lira - CRB-9/1202



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

QUALIDADE DO LEITE EM DIFERENTES PROPRIEDADES
LEITEIRAS NO NORTE E OESTE DO PARANÁ

Autora: Monique Figueiredo Paludo
Orientador: Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

APROVADA em 20 de julho de 2020.



Documento assinado digitalmente
Daniele Cristina da Silva Kazama
Data: 24.07.2020 14:04:52-0300
CPF: 007.732.999-32

Prof^ª Dr^ª Daniele Cristina da Silva
Kazama

Prof. Dr. Ferenc Istvan Bánkuti

Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos
Orientador

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis”.

José de Alencar

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela dádiva do conhecimento.

Agradeço a meus pais, Milton Figueiredo e Mariley Fátima dos Santos Figueiredo, por todo incentivo e apoio incondicional. A minha irmã Nicole Figueiredo. Ao meu marido, Guilherme Felipe Paludo, que sempre acreditou em meu potencial e foi meu alicerce.

Aos amigos, que fiz durante essa jornada em especial Jesus Alberto Cardozo Osório,

Micheli Regiani Sippert, Karoline Guimarães Yamada, Beatriz Tuzzi, Ranulfo

Combuca da Silva Júnior e Jean Carlos Steinmacher Lourenço.

A família NUPEL, por toda ajuda incondicional independente do dia e horário. Sinto-me muito orgulhosa e abençoada por ter feito parte deste grupo que para sempre levarei em minhas recordações.

Ao meu orientador Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos, pela paciência e suporte. À minha coorientadora Prof^ª. Dr^ª. Magali Soares dos Santos Pozza, por toda contribuição e atenção que sempre teve comigo.

A todos os produtores que participaram deste estudo. Ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da UEM. Aos membros da banca examinadora por aceitarem o convite e contribuírem para o aperfeiçoamento do trabalho.

Por fim, a todos que contribuíram de forma direta e indireta para a realização desse trabalho.

BIOGRAFIA

MONIQUE FIGUEIREDO, filha de Milton Figueiredo e Mariley Fátima dos Santos Figueiredo, nasceu em Campo Mourão, Estado do Paraná, no dia 10 de outubro de 1992. cursou graduação em Medicina Veterinária na Universidade Federal do Paraná – Campus Palotina, no período de 2011 a 2017. Em março de 2018, iniciou no mestrado no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, área de concentração Produção animal, sob orientação do Professor Dr. Geraldo Tadeu dos Santos e coorientação da Professora Dra. Magali Soares dos Santos Pozza. Em julho de 2020, submeteu-se à banca examinadora para a defesa de dissertação, que foi apresentada como parte das exigências para obtenção do título de mestre em Zootecnia.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE QUADROS	xi
RESUMO	xi
ABSTRACT	xv
I – INTRODUÇÃO	1
1.1 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
1.1.2 Contagem de células somáticas	3
1.1.3 Gordura	4
1.1.4 Proteína	5
1.1.5 Lactose	5
1.1.6 Sólidos Totais	6
1.1.7 Nitrogênio ureico no leite	6
1.2.1 ANTIOXIDANTES	7
1.3.1 CONTAMINANTES NO LEITE (Nitrato e Nitrito).....	8
1.3.2 Nitrato e nitrito no leite de vaca.....	9
1.4.1. SISTEMA AGROECOLÓGICO X CONVENCIONAL NA CRIAÇÃO DE BOVINOS LEITEIROS	10
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	12

II. OBJETIVOS GERAIS.....	20
III. Avaliação da composição química, atividade antioxidante e quantificação dos teores de nitrato e nitrito no leite produzido em sistemas agroecológico e convencional	21
Resumo	21
Introdução	23
<i>Determinação de nitrito no leite</i>	27
<i>Análise Estatística</i>	28
<i>Submissão ao comitê de ética</i>	28
Resultados	28
Referências.....	34
III. Caracterização de propriedades leiteiras em função do teor de N-ureico do leite do tanque	39
Destaque.....	39
Resumo	39
Palavras-chave.	40
Introdução	40
Materiais e Métodos	41
<i>Coleta de amostras de leite</i>	43
<i>Determinação da composição química do leite; NUL e contagem de células somáticas no leite</i>	43
<i>Análise Estatística</i>	44
<i>Submissão ao comitê de ética</i>	45
Resultados e discussão	45
<i>Variáveis quantitativas em relação a propriedade e a produção de leite</i>	54
<i>Qualidade e composição de leite</i>	55
<i>Variáveis nutricionais; manejo de pastagens e silagem</i>	57
Conclusão.....	59
Agradecimentos.....	59
Referências Bibliográficas	60
VI. APÊNDICE.....	66

LISTA DE ABREVIATURAS

ABTS: 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)

α -LA: Alfa-lactoalbumina

β -LG: Beta-Lactoglobulina

CCS: Contagem de células somáticas

Cel/ml: Células por mililitro

CEUA: Comissão de ética no uso de animais

DPPH: 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH)

EPM: Erro padrão da média

FAO: Organização das Nações Unidas para a alimentação e a agricultura

IDA: Ingestão Diária Aceitável

IDF: Federação Internacional de Laticínios

IN: Instrução Normativa

ISO: Organização Internacional para Padronização

g: Grama

ha: Hectares

JECFA: Relatório Conjunto do Comitê de Especialistas da FAO-OMS sobre aditivos alimentares

TAC: capacidade total antioxidante (TAC)

log¹⁰: Logaritmo¹⁰

mg/dl: Miligrama por decilitro

mg/kg: Miligramas por quilogramas

mg/L: Miligrama por litro

N: Nitrogênio

NaOH: Hidróxido de sódio

NUL: Nitrogênio ureico no leite

PARLPR: Programa de Análise de Rebanhos Leiteiros do Paraná

UV-Vis: Espectroscopia ultravioleta visível

ZnSO₄: Sulfato de zinco

r.p.m.: Rotação por minuto

UEM: Universidade Estadual de Maringá

SAS: Statistical Analysis System

SPL: Sistema de Produção de Leite

SPSS: Statistical Package for the Social Sciences

WHO: Organização Mundial da Saúde

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Composição química do leite de vacas submetidas a diferentes sistemas de produção (agroecológico e convencional).....	29
Tabela 2. DPPH (%) e ABTS (%) em amostras de leite segundo o sistema de produção (agroecológico e convencional)	29
Tabela 3. Determinação de Nitrato e Nitrito (mg/L) em amostras de leite segundo o sistema de produção (agroecológico e convencional).....	30
Tabela 4. Área total da propriedade utilizada para produção de leite e para pasto	45
Tabela 5. Número de vacas e produção diária de leite	45
Tabela 6. Composição e CCS do leite coletado do tanque	46
Tabela 7. Adubação de pastagens.....	46
Tabela 8. Frequência de adubação das pastagens.....	47
Tabela 9. Cultura anterior na pastagem	48
Tabela 10. Uso de silagem.....	48
Tabela 11. Uso de grão transgênico na alimentação das vacas	49
Tabela 12. Realização de correção de solo.....	49
Tabela 13. Fornecimento de sal para as vacas.....	50
Tabela 14. Utilização de subprodutos na alimentação das vacas	50

Tabela 15. Ingredientes utilizados no concentrado fornecidos para vacas.....	51
Tabela 16.. Realização de adubação do grão utilizado para silagem	52
Tabela 17.. Irrigação de pastagens.....	52
Tabela 18. Padrão racial dos rebanhos das propriedades estudadas.....	53
Tabela 19. Proporção das propriedades inseridas nos sistemas de produção agroecológico e convencional em cada cluster	54

LISTA DE QUADROS

	Página
Quadro 1 . Variáveis qualitativas aplicadas aos produtores rurais	42
Quadro 2. Variáveis estruturais e produtivas para caracterização dos SPL	43

RESUMO

O sistema agroecológico é um sistema produtivo em ascensão no Brasil. Na literatura há poucos estudos que elucidam a diferença na composição do leite bovino produzido no sistema agroecológico e no sistema convencional. Visto a demanda crescente por parte de consumidores de produtos advindos de sistemas de criação sustentáveis, é evidente a necessidade de pesquisas que avaliem a qualidade do leite proveniente desses sistemas, pela preocupação com a segurança alimentar. Dessa forma, objetivou-se no presente trabalho observar as diferenças na composição do leite *in natura* de vacas criadas em diferentes sistemas de produção, o agroecológico e o convencional. Visto as diferentes práticas adotadas em cada sistema, espera-se que a qualidade do leite de vacas, em função da sua composição química e a contagem de células somáticas (CCS) apresentem diferenças. Com relação ao Nitrato/Nitrito e análise da capacidade total antioxidante (TAC), espera-se que os animais mantidos em sistemas de produção agroecológico apresentem menor teor de nitrato e nitrito no leite e maiores valores de TAC. Foram coletadas 148 amostras individuais de leite das vacas no momento da

ordenha de forma asséptica e 32 amostras do leite do tanque. As amostras foram submetidas as análises de composição química (proteína, lactose, gordura, sólidos totais), nitrogênio ureico no leite (NUL) e CCS. As amostras de leite individual foram submetidas a TAC mediante as técnicas de 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolína-6-ácido) (ABTS) e ensaios de 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH), a determinação de nitrato (redução de cádmio) e nitrito (análise de Griess). Para análise do leite individual das vacas foram utilizadas 12 propriedades rurais inseridas no sistema convencional e 10 no sistema agroecológico. Foi analisado o leite *in natura* de 148 vacas. A TAC foi realizada pela análise de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e pela determinação de ABTS 2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazolína-6-ácido), observaram-se valores de $6,31 \pm 0,55\%$ e $6,64 \pm 0,44\%$ e de $6,63 \pm 0,28\%$ e $6,48 \pm 0,20\%$ para os sistemas agroecológico e convencional, respectivamente. Os resultados obtidos para nitrato nas amostras provenientes dos sistemas agroecológico e convencional foram, respectivamente, $0,15 \pm 0,03$ mg/L e $0,17 \pm 0,02$ mg/L. Para os teores de nitrito foram encontrados valores de $0,05 \pm 0,03$ mg/L e $0,07 \pm 0,02$ mg/L. Os valores de composição química se encontraram de acordo outros estudos. No entanto, a média da contagem de células somáticas tanto o sistema agroecológico (793.55 ± 465.82) quanto o convencional (1149.55 ± 326.48) se apresentaram acima do considerado saudável para vacas em lactação. Para os parâmetros avaliados não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$) ao comparar os dois sistemas de produção. Na segunda parte desse trabalho, objetivou-se avaliar grupos de propriedades de propriedades leiteiras em função do N-ureico do leite. Visto a importância do NUL na pecuária leiteira por ser uma ferramenta utilizada para monitorar a efetividade da utilização de proteínas pelas vacas. O estudo delimitou a estudar as propriedades no estado do Paraná, pela importância que o estado apresenta na produção de leite no país. Foram utilizadas 32 amostras do leite do tanque de 32 propriedades rurais. Os produtores que foram entrevistados possuem propriedades no norte ou oeste do estado do Paraná, nos seguintes municípios: Palotina, Marechal Cândido Rondon, Jandaia do Sul, Paranacity, Santa Fé, Iguatemi, Iguaraçu, Nova Santa Rosa, Floresta, Maringá, Maripá, Mandaguaçu e Sarandi. As entrevistas e as coletas de leite do tanque foram realizadas de outubro de 2018 a outubro de 2019. Os produtores foram divididos em 3 *clusters* em função do teor de ureia no leite. Foi observado diferença significativa para o número total de vacas (secas+lactação) e o número de vacas em lactação nas propriedades. Observou-se também diferença significativa em NUL, gordura e sólidos totais. Não foi encontrada associação positiva entre NUL e o tipo de sistema de produção.

Visto que o fator nutricional é de grande influência para o teor de NUL, e as propriedades avaliadas proporcionavam aos animais uma alimentação com basicamente as mesmas matérias-primas não foi possível afirmar qual fator influenciou o teor de NUL para os grupos estudados.

Palavras-chave: Gado leiteiro; Contagem de células somáticas; nitrogênio ureico no leite; nitrato; nitrito.

ABSTRACT

The agroecological system is a productive system that is rising in Brazil. There are few studies in the literature that elucidate the difference in the bovine milk composition produced in the agroecological and conventional systems. Given the growing demand from consumers for products from sustainable farming systems, there is a clear need for research that evaluates the milk quality from these systems, due to concerns about food security. Thus, the objective of this study was to observe the differences in the composition of fresh milk from cows raised in different production systems, the agroecological and the conventional. In view of the different practices adopted in each system, it is expected that the quality of cow's milk, depending on its chemical composition and somatic cell count (CCS), will differ. With regard to Nitrate / Nitrite and analysis of the total antioxidant capacity (TAC), it is expected that animals kept in agroecological production systems have lower content of nitrate and nitrite in milk and higher values of TAC. 148 individual milk samples were aseptically collected from cows at the milking time and 32 milk samples from tank. The samples were submitted to analysis of chemical composition (protein, lactose, fat, total solids), urea nitrogen in milk (NUL) and CCS. The individual milk samples were submitted to TAC using the

techniques of 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-acid) (ABTS) and 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) assays, the determination of nitrate (cadmium reduction) and nitrite (Griess analysis). To analyze the individual milk of cows, 12 rural properties were used, inserted in the conventional system and 10 in the agroecological system. The fresh milk of 148 cows was analyzed. TAC was performed by analysis of DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazil) and by the determination of ABTS 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-acid), values of $6.31 \pm 0.55\%$ and $6.64 \pm 0.44\%$ and $6.63 \pm 0.28\%$ and $6.48 \pm 0.20\%$ for the agroecological and conventional systems, respectively were observed. The results obtained for nitrate in samples from the agroecological and conventional systems were, respectively, 0.15 ± 0.03 mg / L and 0.17 ± 0.02 mg / L. For nitrite levels, values of 0.05 ± 0.03 mg / L and 0.07 ± 0.02 mg / L were found. The chemical composition values were found in agreement with other studies. However, the average of somatic cell counts for agroecological system (793.55 ± 465.82) and conventional system (1149.55 ± 326.48) were above what is considered healthy for lactating cows. For the evaluated parameters, no significant difference was observed ($p > 0.05$) when comparing the two production systems. In the second part of this work, the objective was to evaluate groups of properties of dairy farms according to the N-urea in milk. Given the importance of NUL in dairy farming as it is a tool used to monitor the effectiveness of protein use by cows. The study was limited to studying properties in the state of Paraná, due to the importance that the state has in milk production in the country. 32 samples of milk from tank of 32 rural properties were used. The producers that were interviewed have properties in the North or West of the state of Paraná, in the following municipalities: Palotina, Marechal Candido Rondon, Jandaia do Sul, Paranacity, Santa Fé, Iguatemi, Iguaraçu, Nova Santa Rosa, Floresta, Maringá, Maripá, Mandaguaçu and Sarandi. The interviews and milk collections from tanks were carried out from October 2018 to October 2019. The producers were divided into 3 clusters according to the urea content in milk. A significant difference was observed for the total number of cows (dry + lactation) and the number of lactating cows on the properties. There was also a significant difference in NUL, fat and total solids. No positive association was found between NUL and the type of production system. Since the nutritional factor is of great influence for the NUL content, and the evaluated properties provided the animals with a feed with basically the same raw materials, it was not possible to state which factor influenced the NUL content for the studied groups.

Keywords: Dairy cattle; Somatic cell count; urea nitrogen in milk; nitrate; nitrite.

I – INTRODUÇÃO

A economia pecuária é uma das principais economias do mundo, que tem por base o leite e a carne (PRAGNA et al., 2017). O leite está entre os alimentos mais consumidos pelos seres humanos, especialmente em estágios iniciais da vida, como a infância, em que configura a principal fonte de nutrientes ingerida (MONCAYO et al., 2017). Sendo, o leite de vaca o mais consumido, representando 85% da quantidade total de leite produzido em todo o mundo (GANTNER et al., 2015).

A produção de leite no Estado do Paraná tem importância social e econômica (CASALI et al., 2020). De acordo com o IBGE (2018), no ano de 2017 o Paraná alcançou a produção total de 3,3 bilhões de litros de leite de vaca. Do ponto de vista econômico a alta produtividade é importante, entretanto, atualmente a demanda por leite de elevada qualidade é crescente (OSORIO et al., 2016). A composição e a qualidade do leite também são características economicamente importantes para as propriedades leiteiras (CINAR et al., 2015; KOC et al., 2007).

Há muito tempo sabe-se que a composição pode ser influenciada por fatores ambientais e práticas de manejo (PRAGNA et al., 2017). Nesse contexto, observa-se aumento por parte dos consumidores pela procura por produtos advindos de produções sustentáveis, como a agroecológica.

No Brasil, houve crescimento significativo no número de fazendas envolvidas em sistemas agroecológicos (OLIVO et al., 2005), em que a base da produção é otimizar a integração entre capacidade produtiva, uso e conservação da biodiversidade e dos demais recursos naturais, visando também a eficiência econômica e a justiça social (BRASIL, 2012). No entanto, apesar da crescente demanda por produtos advindos de sistemas sustentáveis, ainda são escassos os trabalhos que relacionam a composição e qualidade do leite de animais criados em sistema agroecológico e convencional.

Normalmente, o leite é composto majoritariamente por gordura, proteína, lactose e cinzas (GANTNER et al., 2015). Contudo, a composição do leite pode ser influenciada por fatores relacionados ao animal e ao ambiente (SCHWENDEL et al., 2015). Fatores como estresse térmico (PRAGNA et al., 2017), raça (NRC, 1988; SUTTON, 1989), genética (AMENU & DEETH, 2007; GANTNER et al., 2015), meio ambiente (GANTNER et al., 2015), práticas de manejo, saúde (NRC, 1988), dieta (CARROLL et al., 2006; AMENU & DEETH, 2007; SUTTON, 1989; GANTNER et al., 2015), paridade (CARROLL et al., 2006), escore corporal (JÓNÁS et al., 2016) e estágio de lactação (CARROLL et al., 2006; JÓNÁS et al., 2016).

O leite também apresenta potencial atividade antioxidante (NIERO et al., 2017) por conter vários componentes fisiologicamente funcionais incluindo proteínas, vitaminas como vitamina E e C, bem como carotenoides e flavonoides com propriedades antioxidantes (SIMOS et al., 2011).

Além disso, contaminantes como nitrato e nitrito podem estar presentes no leite em níveis variados dependendo de fatores como dieta (LEE & BEAUCHEMIN, 2014; SANTOS et al., 2005) e local de origem da amostra (ZBIKOWSKI et al., 2000), que estão intimamente ligados com as características físicas e geográficas da propriedade, e o sistema de produção ao qual a vaca está inserida (ZBIKOWSKI et al., 2000). O nitrato e nitrito também podem estar presentes no leite na forma de constituinte natural ou pela sua inclusão como aditivo (MENARD et al., 2008).

É possível que o sistema de produção influencie na composição e qualidade do leite cru de vacas leiteiras. Por isso, objetivou-se na primeira parte desse trabalho realizar uma pesquisa buscando examinar a influência do sistema de criação (agroecológico x convencional) na composição do leite de vacas em rebanhos leiteiros do norte e oeste do Paraná no Brasil. Na segunda parte desse trabalho, objetivou-se avaliar grupos de propriedades leiteiras em função do N-ureico do leite.

1.1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1.1 Composição do Leite de vaca

O leite é um alimento exclusivo que contém macro e micronutrientes valiosos (YILMAZ-ERSAN et al., 2018). Rico em ácidos graxos essenciais, vitaminas, minerais, aminoácidos e oligossacarídeos (COSTA et al., 2019). A análise da composição química do leite e a contagem de células somáticas (CCS) desempenham papel fundamental no monitoramento da sua qualidade (CINAR et al., 2015).

Visto que a determinação de CCS no leite do tanque é utilizado para identificar a prevalência de casos de mastite no rebanho (BAUMAN et al., 2018). O leite que contém alta CCS possui qualidade inferior (KLEI et al., 1998), pois há relação do aumento de CCS com alterações na consistência do leite (densidade), reduzindo assim as chances de haver um processamento adequado, com alto risco para a higiene do leite, podendo inclusive conter organismos patogênicos (BYTYQI et al., 2010).

Além disso, os consumidores de hoje se tornaram mais conscientes da qualidade e do valor nutricional dos alimentos lácteos que ingerem e isso impôs crescente pressão sobre pesquisas que visam aumentar os principais constituintes do leite (NASR & EL-TARABANY, 2017), que é composto por nutrientes essenciais, como a lactose, gordura, proteínas facilmente digeríveis com equilibrado perfil de aminoácidos, juntamente com minerais e vitaminas (AMENU & DEETH, 2007; SINGH et al., 2018). O leite também possui naturalmente compostos antioxidantes não enzimáticos (YILMAZ-ERSAN et al., 2018).

Durante o processo de produção do leite, ele é exposto a muitos contaminantes químicos transportados pelos alimentos, forragens e outros constituintes da dieta, incluindo a água (NAG, 2010). Visto isso, a contaminação do leite com nitrato e nitrito é uma preocupação, sabendo que a sua presença pode ser originada da alimentação bovina (LEE & BEAUCHEMIN, 2014; SANTOS et al., 2005).

1.1.2 Contagem de células somáticas

As células somáticas são primariamente leucócitos ou células brancas do sangue (macrófagos, linfócitos e neutrófilos), que passam para o leite em resposta a agressão sofrida pela glândula mamária (BRITO et al., 1998).

A contagem de células somáticas (CCS) pode ser utilizada para monitorar o nível ou ocorrência de mastite subclínica em vacas (SHARMA et al., 2011; SCHUKKEN et al., 2003), indicando de maneira quantitativa o grau de infecção da glândula mamária (MACHADO et al., 2000) causada por microrganismos específicos e não específicos, que causam mastite contagiosa e ambiental (BYTYQI et al., 2010). Ainda, a CCS do leite do tanque indica a incidência média de mastite no rebanho (MACHADO et al., 2000).

É essencial monitorar infecções intramamárias em vacas leiteiras, a fim de manter a qualidade do leite e a saúde do rebanho (REIS et al., 2013). A mastite bovina é uma doença que afeta o gado leiteiro em todo o mundo (ANDREI et al., 2016) e as perdas econômicas decorrentes do tratamento dessa doença e morte dos animais, bem como a diminuição da produção de leite são significativas (XUE et al., 2014).

A mastite subclínica determina ainda, mudanças na concentração dos principais componentes do leite, como: proteína, gordura, lactose e minerais (CUNHA et al., 2008), devido a modificação da permeabilidade dos vasos sanguíneos da glândula e alteração da habilidade de síntese do tecido secretor pela ação direta dos patógenos ou de enzimas sobre os componentes já secretados no interior da glândula (MACHADO et al., 2000).

As principais causas de mastite podem ser problemas de equipamento, higiene ou ambos (BAUMAN et al., 2018). Sabe-se também que outros fatores influenciam a alta CCS no leite cru e tem relação principalmente com a gestão agrícola, a região geográfica, o melhoramento animal, o clima, a estação do ano, entre outros (BYTYQI et al., 2010). Diante disso, várias estratégias são importantes para a sua prevenção, entre elas, o uso de selantes e antissépticos de tetos (SHARMA et al., 2011) em conjunto com a implementação da desinfecção de tetos após a ordenha (DEB et al., 2013).

1.1.3 Gordura

Nutricionalmente a gordura do leite é uma fonte de energia (OSORIO, 2016) que desempenha papel importante na saúde humana (SINGH et al., 2018). Em média, o percentual de gordura no leite bovino é de 4%, dos quais 97-98% são triacilglicerídeos (SINGH et al., 2018), com quantidades muito menores de ácidos graxos livres, monoglicerídeos, diglicerídeos, fosfolipídios, esteróis e hidrocarbonetos (JENNESS, 1988).

Devido à sensibilidade da gordura à manipulação da dieta (SUTTON, 1989), estratégias nutricionais são ferramentas poderosas para a manipulação da sua

concentração e composição (HRISTOV et al., 2018; JENKINS & MCGUIRE, 2006). Os fatores dietéticos, particularmente importantes para a manipulação são a quantidade de volumoso, a proporção de forragem: concentrado, a composição de carboidratos dos concentrados, lipídios, ingestão e frequência das refeições (SUTTON, 1989).

Além do fator nutricional, a composição de gordura de leite é fortemente influenciada pelo estágio de lactação, pois a proporção de ácidos graxos de cadeia curta que são originários da síntese de novo é baixo inicialmente após o parto, e aumenta até pelo menos 8 a 10 semanas, após o início da lactação (AMENU & DEETH, 2007).

Também existem diferenças na composição de gordura do leite entre as raças, relacionada a fatores genéticos (POULSEN et al., 2019; GUSTAVSSON et al., 2014). Visto isso, o teor de gordura no leite pode ser alterado por meio da criação seletiva de animais objetivando o melhoramento para a produção de gordura no leite (CECCHINATO et al., 2019).

1.1.4 Proteína

O leite é considerado uma importante fonte de proteína na dieta humana, por fornecer aproximadamente 32 g de proteína por litro (PEREIRA, 2014). Classificadas como proteínas com alto valor biológico, as proteínas do leite possuem alta digestibilidade (97% a 98%), rápida absorção e utilização no organismo (RAFIQ et al., 2016). As proteínas do leite são subdivididas em caseínas e proteínas do soro de leite (GUSTAVSSON et al., 2014).

A proteína do leite é considerada uma característica econômica essencial (XUE et al., 2019) devido a sua importância no processo de transformação do leite em queijo e outros produtos derivados, e por conter propriedades nutricionais benéficas, portanto, alta concentração de proteína aumenta a qualidade e o valor geral do leite (OSORIO et al., 2016).

Poucas mudanças são possíveis na concentração de proteína do leite (Sutton, 1989). No entanto, o manejo nutricional e as modificações na composição da dieta são responsáveis por pequenas alterações em sua porcentagem (REIS et al., 2013).

1.1.5 Lactose

A lactose como osmorreguladora é o principal determinante do volume de leite (LIN et al., 2016). Visto que a síntese e transporte de lactose para o lúmen alveolar são

seguidos de transporte de água e produção de leite (RIGOUT et al., 2002). Sabe-se que a lactose é o único sacarídeo na glândula mamária de mamíferos (XUE et al., 2014) sendo sintetizada a partir de glicose livre (RIGOUT et al., 2002) e difosfato de uridina (UDP) – galactose (LIN et al., 2016).

De acordo com Lin et al. (2016) a glicose tem a capacidade de induzir a síntese de lactose nas células epiteliais mamárias das vacas leiteiras, além de aumentar a viabilidade e proliferação celular.

Às vezes, mudanças muito pequenas na concentração de lactose ocorrem em resposta à dieta, mas são inconsistentes e não têm valor prático (SUTTON, 1989). Entretanto, de acordo com Osorio et al. (2016) é possível aumentar a síntese de lactose através da combinação de melhorias genéticas com bom manejo, e inclui a melhoria da disponibilidade nutricional dos compostos básicos usados pela glândula mamária para produzir leite.

O conhecimento científico sobre a variabilidade da lactose ainda é escasso, pelo consenso que esse composto é constante no leite e não afeta a qualidade e as propriedades tecnológicas do leite (COSTA et al., 2019).

1.1.6 Sólidos Totais

O leite contém mais água do que qualquer outro constituinte, em média 87% (ANDRADE et al., 2013) e excluindo-a os outros constituintes que são dissolvidos, dispersos coloidalmente e emulsionados em água, representam os sólidos totais (JENNESS, 1988). Os sólidos totais (ST) são divididos em lipídeos (gorduras) e sólidos não gordurosos (SNG – principalmente, proteínas, carboidratos e cinzas) (ANDRADE et al., 2013).

1.1.7 Nitrogênio ureico no leite

O nitrogênio ureico no leite (NUL) é uma ferramenta usada na pecuária leiteira para monitorar a efetividade da utilização de proteínas no trato gastrointestinal de vacas leiteiras (GULIŃSKI et al., 2016) e adequação das dietas quando se trata do teor de nitrogênio (N) (HRISTOV et al., 2018).

A principal razão para níveis elevados de ureia no leite está relacionada com o excesso de proteína contida na dieta da vaca concomitante a um desequilíbrio energético e proteico, visto que, quando administradas rações com muita proteína, o excesso de

nitrogênio é excretado nos fluidos corporais, ou seja, plasma, nitrogênio da ureia no plasma (PUN), leite e urina (UN - nitrogênio da urina) (GULIŃSKI et al., 2016).

Além do excesso de proteína na dieta, a alta concentração de NUL pode ser pelos fatores adicionais, como o sistema de produção, estação do ano, momento da amostragem, método de análise (LEÃO et al., 2014), frequência da administração de alimentos para animais, número de ordenhas e duração do intervalo entre as ordenhas, peso corporal da vaca, volume de ingestão de água, nível de suplementação de Na e K e pH ruminal (GULIŃSKI et al., 2016).

Vários estudos apontam valores diversificados quando se trata de NUL. De acordo com Leão et al. (2014) o NUL deve estar dentro do limite entre 10 a 14 mg/dL. Em um estudo realizado por Meyer et al. (2006) em que foram utilizadas 7.006 observações provenientes de 855 vacas da raça Holandês, a concentração média de NUL encontrada foi 13,3 mg/dL. Valores similares foram encontrados por Jonker et al. (2002) ao avaliar fazendas leiteiras, a concentração média quadrada de NUL para as fazendas foi de $12,4 \pm 3,01$ mg/dL, de um total de 1138 observações.

Ainda, o controle do fornecimento de proteína a vacas leiteiras pode ajudar a reduzir os custos de alimentação e a emissão de nitrogênio (N) para o meio ambiente (GULIŃSKI et al., 2016).

1.2.1 ANTIOXIDANTES

O leite apresenta grande variedade de compostos com potencial antioxidante, como vitaminas (A, C e E), carotenoides, ácido úrico, ácido linoleico conjugado (CLA), antioxidantes enzimáticos como catalase, superóxido dismutase, glutathione peroxidase, enzimas, proteínas (caseína, lactoferrina, α -Lactalbumina (α -LA), β -Lactoglobulina (β -LG) e aminoácidos (tirosina, cisteína, triptofano, lisina) (PIHLANTO, 2006; YILMAZ-ERSAN et al., 2018; ERSAN et al., 2018). Também são relatados atividade antioxidante em peptídeos gerados a partir da digestão de proteínas do leite (PIHLANTO, 2006).

Os antioxidantes funcionam impedindo a formação de radicais livres ou eliminando radicais e peróxidos (PIHLANTO, 2006). Dessa forma, a atividade antioxidante do alimento lácteo é importante tanto para a vida útil do produto, quanto na manutenção da qualidade do leite, podendo ainda ser utilizado como ingrediente funcional em alimentos e produtos farmacêuticos (ZULUETA et al., 2009). Sabe-se

também que os antioxidantes do leite têm efeitos benéficos na saúde humana, atuando no combate do estresse oxidativo (CHEN et al., 2002).

Conhecidamente os antioxidantes artificiais (BHA [(hidroxianisol butilado), BHT (hidroxitolueno butilado) e galato de n-propil]) exibem forte atividade antioxidante contra vários sistemas de oxidação, no entanto, apresentam riscos como a potencial carcinogenicidade do BHA (VERHAGEN et al., 1991) e a indução de tumores no fígado em estudos experimentais com uso de BHT a longo prazo (KAHL & KAPPUS, 1993). Diante disso, o seu uso em alimentos é restrito e até proibido em alguns países (PIHLANTO, 2006). Dessa forma, os antioxidantes de fontes naturais como os lácteos são mais seguros.

1.3.1 CONTAMINANTES NO LEITE (Nitrato e Nitrito)

Naturalmente formados no ciclo do nitrogênio, o nitrato e o nitrito são produzidos em um processo denominado "fixação", e ocorre a conversão do nitrogênio atmosférico em nitrogênio da planta, que posteriormente, pela ação das bactérias nitrificantes transforma o nitrogênio amoniacal em nitrito e depois em nitrato, que é o principal nutriente assimilado pelas plantas (KAMRA et al., 2015; COCKBURN et al., 2013).

O nitrato (NO_3^-) é um ânion inorgânico (VILLAR et al., 2020) encontrado no meio ambiente na forma de sólido cristalino (MENARD et al., 2008). Este composto está presente no solo, água e alimentos em concentrações variáveis e dependentes de diversos fatores, tais como, adubação, clima, uso de agroquímicos e vegetação (WRIGHT & DAVISON, 1964). A atividade antioxidante e antimicrobiana do NO_3^- pode ser explorada em produtos derivados de carne e leite, como os salames e queijos (HONIKEL, 2008). O nitrito (NO_2^-) metabólito do nitrato, também é usado como aditivo alimentar multifuncional, especialmente na preservação de carnes (ARCHER, 2002), devido ao controle da oxidação de lipídios e sua ação antimicrobiana (SINDELAR & MILKOWSKI, 2012).

Níveis elevados de nitrato em alimentos e água são indesejáveis, pois sua redução a nitrito pode representar séria ameaça para a saúde animal (MARAIS et al., 1988). Especialmente para os ruminantes que são vulneráveis à intoxicação por ingestão de nitrato, devido ao potencial redutor dos microrganismos presentes no rúmen (ASLANI & VOJDANI et al., 2007). A redução do nitrato a amônia, permite que o nitrito (intermediário) se acumule no rúmen e seja absorvido pela corrente sanguínea (AL-

QUDAH et al., 2009; LEE & BEAUCHEMIN, 2014). Após a absorção, o nitrito se liga a hemoglobina resultando em metahemoglobina, uma molécula que é incapaz de capturar e transportar oxigênio (ANDERSON et al., 2016). O nitrato em si é relativamente não tóxico, mas seus metabólitos e produtos de reação, por exemplo, nitrito, óxido nítrico e compostos N-nitroso, suscitaram preocupação pelas implicações aos efeitos adversos à saúde humana, como metahemoglobinemia e carcinogênese (EFSA, 2008).

Embora o potencial de toxicidade exista, o nitrato é um aditivo alimentar que recebeu atenção por ser um aceptor de elétrons no rúmen, reduzindo assim as emissões de metano entérico dos ruminantes, que é um assunto amplamente debatido (LEE & BEAUCHEMIN, 2014).

Apesar de favorável no controle das emissões de metano, quando presente na dieta de ruminantes, o nitrato e o nitrito podem ser transferidos para o leite, isso ocorre quando a vaca aumenta a ingestão de alimentos que contenham um nível elevado desses compostos (RADZYMIŃSKA et al., 2008).

Sendo os nitratos de fertilizantes e esterco animal um dos principais contaminantes da água em muitas áreas (GLIESSMAN, 2014). Sabe-se também que a compra de ração pelas fazendas leiteiras convencionais muitas vezes leva a entrada substancial de nitrogênio (CEDERBERG & MATTSSON, 2000), que pode também influenciar a quantidade de nitrato e nitrito contidos no leite.

1.3.2 Nitrato e nitrito no leite de vaca

A presença dessas substâncias nos alimentos lácteos é indesejável, pois tem um vínculo direto com a saúde dos consumidores (NAG, 2010). Após a ingestão de nitrato por seres humanos, pode haver reações com aminas secundárias presentes no trato gastrointestinal, que são potencialmente carcinogênicas (CHAMANDUST et al., 2016; HORD et al., 2009). Além disso, quando ingerido em níveis elevados o nitrito é capaz de causar formação de metahemoglobina em humanos (COCKBURN et al., 2013).

Dessa forma, visto a importância do leite na produção de alimentos para bebês e crianças, a concentração de nitrato e nitrito se tornou grande preocupação para a saúde humana (BARANOVA et al., 1993).

De acordo com Vallverdú-Queralt & Lamuela-Raventós (2016) a análise química clássica de macro e micronutrientes demonstra que as culturas orgânicas são mais pobres em nitrogênio. Entretanto, Woese et al. (1997) afirmam que a produção alternativa /

orgânica tem maior teor de nitrato do que o leite produzido convencionalmente. Por outro lado, um estudo realizado por Santos et al. (2005) observaram que os níveis de nitratos e nitritos em amostras de leite não tiveram influência do sistema de produção avaliado (convencional ou orgânico), época de coleta, turno de ordenha ou local de origem. Amostras coletadas em propriedades do Rio Grande do Sul, no Brasil, mostraram que os teores médios de nitrato e nitrito encontrados nas amostras (n=45) produzidas no sistema orgânico apresentaram 7,08 mg/L de nitrato e 1,61 mg/L de nitrito, enquanto no sistema convencional apresentaram 6,36 e 1,87 mg/L, respectivamente (SANTOS et al., 2005).

Entretanto, sabendo que um dos fatores que influenciam o acúmulo de nitrato nas culturas forrageiras é uso de fertilizantes, espera-se que a produção convencional que usa de uma agricultura mais intensiva, apresente maior concentração de nitrato/nitrito no leite de animais inseridos nesse sistema.

1.4.1. SISTEMA AGROECOLÓGICO X CONVENCIONAL NA CRIAÇÃO DE BOVINOS LEITEIROS

A agricultura convencional moderna inclui grande dependência de fertilizantes químicos, pesticidas e herbicidas que geram poluição ambiental (RIGBY et al., 2001), e fomentam a escassez de recursos naturais (DE PONTI et al., 2012). Tendo em vista as demandas crescentes que produtores rurais estão sofrendo para reduzir seus impactos ambientais há necessidade por sistemas agrícolas sustentáveis (HANRAHAN et al., 2018).

Mudanças nos hábitos da população também culminaram na busca por alimentos advindos de sistemas de produção sustentáveis como a agroecologia. A agroecologia propõe alternativas para minimizar a artificialização do ambiente natural pela agricultura, utilizando enfoque científico que tem suas próprias ferramentas, teorias e hipóteses, que permite trabalhar no âmbito dos agroecossistemas e no desenvolvimento de sistemas agrícolas complexos e diversificados (ASSIS, 2006).

De acordo com Dumont et al. (2018) existem diferentes maneiras de alcançar a sustentabilidade na pecuária que inclui estruturas como a agricultura orgânica e agroecológica. De acordo com o Decreto nº 7.794, de 20 de agosto de 2012, a produção de base agroecológica é aquela que busca otimizar a integração entre a capacidade produtiva, uso e conservação da biodiversidade e dos demais recursos naturais, equilíbrio

ecológico, eficiência econômica e justiça social, abrangida ou não pelos mecanismos de controle de que trata a Lei nº 10.831, de 2003, e sua regulamentação (BRASIL, 2012).

No sistema agroecológico é evidenciado o uso de raças mais rústicas e resistentes do que nos sistemas convencionais. Os animais rústicos/nativos são definidos pelo manejo com baixo aporte de insumos, e também podem afetar consideravelmente a composição do leite contrastando com a pecuária leiteira convencional moderna com base em sistemas de produção intensivos e raças de alto rendimento (POULSEN et al., 2019).

Apesar dos benefícios do sistema agroecológico é difícil prever sua sustentabilidade geral, e impossível provar isso além do "teste do tempo" (HOLT-GIMÉNEZ, 2002). Como a maioria das regiões do Brasil apresentam condições tropicais, os agricultores argumentam que a ausência de aconselhamento técnico e pesquisa sobre sistemas agroecológicos causam grande restrição para a adoção desse sistema (OLIVO et al., 2005). Visto que, o número de estudos que comparam sistemas sustentáveis e sistemas convencionais é limitado, é necessário a realização de trabalhos que elucidem as diferenças e os benefícios de cada sistema.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-QUDAH, K. M.; ROUSAN, L. M.; EREIFEJ, K. I. Nitrate/nitrite poisoning in dairy cattle associated with consumption of forages irrigated with municipally treated wastewater. **Toxicological & Environmental Chemistry**, v.91, n.1, p.163–170, 2009.
- AMENU, B., & DEETH, H. C. The impact of milk composition on cheddar cheese manufacture. **Australian Journal of Dairy Technology**, v. 62, n. 3, p. 171, 2007.
- ANDERSON, R. C., RIPLEY, L. H., BOWMAN, J. G. P., CALLAWAY, T. R., GENOVESE, K. J., BEIER, R. C., HARVEY, R. B. & NISBET, D. J. Ruminant Fermentation of Anti-Methanogenic Nitrate- and Nitro-Containing Forages In Vitro. **Frontiers in Veterinary Science**, v.3, p.62, 2016.
- ANDRADE, R. B; OLIVEIRA, T. C. DE; MENEZES, E. Determinação do extrato seco total e extrato seco desengordurado em Leite fluido por método gravimétrico; Método de Ensaio de Produto de Origem Animal (METPOA), Rio Grande do Sul, p. 1-6, 2013.
- ARCHER, D. L. Evidence that Ingested Nitrate and Nitrite Are Beneficial to Health. **Journal of Food Protection**, v.65, n.5, p.872–875, 2002.
- ASSIS, R. L. Desenvolvimento rural sustentável no Brasil: perspectivas a partir da integração de ações públicas e privadas com base na agroecologia. **Economia Aplicada**, v.10, n.1, p.75-89, 2006.
- ASLANI, M. R., & VOJDANI, M. Nitrate intoxication due to ingestion of pigweed red-root (*Amaranthus retroflexus*) in cattle. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v.8, n.4, p.377-380, 2007.
- BARANOVA, M.; MAL'A, P.; BURDOVA, O. Transport of nitrates and nitrites into the milk of dairy cows through the digestive system. **Veterinarni Medicina**, v.38, n.10, p.581-588, 1993.
- BAUMAN, C. A., BARKEMA, H. W., DUBUC, J., KEEFE, G. P., & KELTON, D. F. Canadian national dairy study: Herd-level milk quality. **Journal of dairy science**, v. 101, n. 3, p. 2679-2691, 2018.

BRASIL. Decreto nº 7.794, de 20 de agosto de 2012. Institui a Política Nacional de Agroecologia e Produção Orgânica. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 2012.

BRITO, J. R. F., & DIAS, J. C. A qualidade do leite. 1998. v.1, cap.3, p. 61-74.

BYTYQI, H., ZAUGG, U., SHERIFI, K., HAMIDI, A., GJONBALAJ, M., MUJI, S., & MEHMETI, H. Influence of management and physiological factors on somatic cell count in raw cow milk in Kosova. **Veterinarski arhiv**, v. 80, n. 2, p. 173-183, 2010.

CASALI, M., DE MENDONÇA, B. S., DE BRITO, M. M., DOS SANTOS, M. G. R., LIMA, P. G. L., DA SILVA SIQUEIRA, T. T., DAMASCENO, J. C., & BÁNKUTI, F. I. Information asymmetry among dairy producers in Paraná, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 41, n. 1, p. 293-304, 2020.

CARROLL, S. M., DEPETERS, E. J., TAYLOR, S. J., ROSENBERG, M., PEREZ-MONTI, H., & CAPPS, V. A. Milk composition of Holstein, Jersey, and Brown Swiss cows in response to increasing levels of dietary fat. **Animal feed science and technology**, v. 131, n. 3-4, p. 451-473, 2006.

CECCHINATO, A., MACCIOTTA, N. P. P., MELE, M., TAGLIAPIETRA, F., SCHIAVON, S., BITTANTE, G., & PEGOLO, S. Genetic and genomic analyses of latent variables related to the milk fatty acid profile, milk composition, and udder health in dairy cattle. **Journal of dairy science**, v. 102, n. 6, p. 5254-5265, 2019.

CHAMANDUST, S., MEHRASEBI, M. R., KAMALI, K., SOLGI, R., TARAN, J., COBELLIS, G., TRABALZA-MARINUCCI, M., & YU, Z. Critical evaluation of essential oils as rumen modifiers in ruminant nutrition: A review. **Science of the Total Environment**, v.545, p.556-568, 2016.

CHEN, J., GORTON, L., & ÅKESSON, B. Electrochemical studies on antioxidants in bovine milk. **Analytica Chimica Acta**, v. 474, n. 1-2, p. 137-146, 2002.

CINAR, M., SERBESTER, U., CEYHAN, A., & GORGULU, M. Effect of somatic cell count on milk yield and composition of first and second lactation dairy cows. **Italian Journal of Animal Science**, v. 14, n. 1, p. 3646, 2015.

COCKBURN, A., BRAMBILLA, G., FERNÁNDEZ, M. L., ARCELLA, D., BORDAJANDI, L. R., COTTRILL, B., PETEGHEM C. V., & DORNE, J. L. Nitrite in

feed: from animal health to human health. **Toxicology and applied pharmacology**, v.270, n.3, p.209-217, 2013.

COSTA, A., LOPEZ-VILLALOBOS, N., SNEDDON, N. W., SHALLOO, L., FRANZOI, M., DE MARCHI, M., & PENASA, M. Invited review: Milk lactose—Current status and future challenges in dairy cattle. **Journal of dairy science**, v. 102, n. 7, p. 5883-5898, 2019.

CUNHA, R. P. L., MOLINA, L. R., CARVALHO, A. U., FACURY FILHO, E. J., FERREIRA, P. M., & GENTILINI, M. B. Subclinical mastitis and the relationship between somatic cell count with number of lactations, production and chemical composition of the milk. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 1, p. 19-24, 2008.

GANTNER, V., MIJIĆ, P., BABAN, M., ŠKRTIĆ, Z., & TURALIJA, A. The overall and fat composition of milk of various species. **Mljekarstvo/Dairy**, v. 65, n. 4, 2015.

GULIŃSKI, P., SALAMOŃCZYK, E., & MŁYNEK, K. Improving nitrogen use efficiency of dairy cows in relation to urea in milk—a review. **Animal Science Papers and Reports**, v. 34, n. 1, p. 24, 2016.

GUSTAVSSON, F., BUITENHUIS, A. J., JOHANSSON, M., BERTELSEN, H. P., GLANTZ, M., POULSEN, N. A., LINDMARK MÅNSSON, H., STÅLHAMMAR, H., LARSEN, L.B., BENDIXEN, C., PAULSSON, M., & ANDRÉN, A. Effects of breed and casein genetic variants on protein profile in milk from Swedish Red, Danish Holstein, and Danish Jersey cows. **Journal of dairy science**, v. 97, n. 6, p. 3866-3877, 2014.

HANRAHAN, L., MCHUGH, N., HENNESSY, T., MORAN, B., KEARNEY, R., WALLACE, M., & SHALLOO, L. Factors associated with profitability in pasture-based systems of milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 6, p. 5474-5485, 2018.

HOLT-GIMÉNEZ, E. Measuring farmers' agroecological resistance after Hurricane Mitch in Nicaragua: a case study in participatory, sustainable land management impact monitoring. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 93, n. 1-3, p. 87-105, 2002.

HONIKEL, K. O. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. **Meat science**, v.78, n.1-2, p.68-76, 2008.

HORD, N. G., TANG, Y., & BRYAN, N. S. Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potential health benefits. **The American journal of clinical nutrition**, v.90, n.1, p.1-10, 2009.

HRISTOV, A. N., HARPER, M. O. H. J., GIALLONGO, F., LOPES, J. C., CUDOC, G., CLAY, J., WARD, R., & CHASE, L. E. Variability in milk urea nitrogen and dairy total mixed ration composition in the northeastern United States. **Journal of dairy science**, v. 101, n. 2, p. 1579-1584, 2018.

IBGE. Censo Agropecuário 2017. Resultados definitivos - Paraná. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão/IBGE, 2018 <https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo_agro/resultadosagro/pdf/pr.pdf>

JENNESS, R. Composition of milk. In: **Fundamentals of dairy chemistry**. Springer, Boston, MA, p. 1-38, 1988.

JENKINS, T. C., & MCGUIRE, M. A. Major advances in nutrition: impact on milk composition. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n.4, p.1302-1310, 2006.

JONKER, J. S., KOHN, R. A., & HIGH, J. Use of Milk Urea Nitrogen to Improve Dairy Cow Diets¹. **Journal of dairy science**, v. 85, n. 4, p. 939-946, 2002.

KLEI, L., YUN, J., SAPRU, A., LYNCH, J., BARBANO, D., SEARS, P., & GALTON, D. Effects of milk somatic cell count on cottage cheese yield and quality. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 5, p. 1205-1213, 1998.

KOC, A. Daily milk yield, non-fat dry matter content and somatic cell count of Holstein-Friesian and Brown-Swiss cows. **Acta veterinaria**, v. 57, n. 5-6, p. 523-535, 2007.

LEÃO, G. F. M., NEUMANN, M., ROZANSKI, S., DURMAN, T., DOS SANTOS, S. K., & BUENO, A. V. I. Nitrogênio uréico no leite: aplicações na nutrição e reprodução de vacas leiteiras. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 10, n. 2, p. 29-36, 2014.

LEE, C., & BEAUCHEMIN, K. A. A review of feeding supplementary nitrate to ruminant animals: nitrate toxicity, methane emissions, and production performance. **Canadian Journal of Animal Science**, v.94, n.4, p.557-570, 2014.

LIN, Y., SUN, X., HOU, X., QU, B., GAO, X., & LI, Q. Effects of glucose on lactose synthesis in mammary epithelial cells from dairy cow. **BMC veterinary research**, v. 12, n. 1, p. 81, 2016.

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**, v. 29, n. 6, p. 1883-1886, 2000.

MARAI, J. P., THERION, J. J., MACKIE, R. I., KISTNER, A., & DENNISON, C. Effect of nitrate and its reduction products on the growth and activity of the rumen microbial population. **British Journal of Nutrition**, v.59, n.02, p.301-313, 1988.

MEYER, P. M., MACHADO, P. F., COLDEBELLA, A., CASSOLI, L. D., COELHO, K. O., & RODRIGUES, P. H. M. Fatores não-nutricionais e concentração de nitrogênio uréico no leite de vacas da raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3, p. 1114-1121, 2006.

MONCAYO, S., MANZOOR, S., ROSALES, J. D., ANZANO, J., & CACERES, J. O. Qualitative and quantitative analysis of milk for the detection of adulteration by Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS). **Food chemistry**, v. 232, p. 322-328, 2017.

NAG, S. K. Pesticides, veterinary residues and other contaminants in milk. In: **Improving the safety and quality of milk**. Woodhead Publishing, p.113-145, 2010.

NASR, M. A., & EL-TARABANY, M. S. Impact of three THI levels on somatic cell count, milk yield and composition of multiparous Holstein cows in a subtropical region. **Journal of thermal biology**, v. 64, p. 73-77, 2017.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Designing foods: animal product options in the marketplace**. National Academies Press, 1988. p. 224-241, 1988.

NIERO, G., PENASA, M., CURRÒ, S., MASI, A., TRENTIN, A. R., CASSANDRO, M., & DE MARCHI, M. Development and validation of a near infrared spectrophotometric method to determine total antioxidant activity of milk. **Food chemistry**, v. 220, p. 371-376, 2017.

OLIVO, C. J., BECK, L. I., MOSSATE GABBI, A., SANTINI CHARAO, P., SOBCZAK, M. F., & GOMEZ UBERTY, L. F. Composition and somatic cell count of milk in conventional and agro-ecological farms: a comparative study in Depressão Central, Rio Grande do Sul state, Brazil. **Livestock Research for Rural Development**, v. 17, n. 6, p. 14, 2005.

OSORIO, J. S., LOHAKARE, J., & BIONAZ, M. Biosynthesis of milk fat, protein, and lactose: roles of transcriptional and posttranscriptional regulation. **Physiological genomics**, v. 48, n. 4, p. 231-256, 2016.

PEREIRA, P. C. Milk nutritional composition and its role in human health. **Nutrition**, v. 30, n. 6, p. 619-627, 2014.

PRAGNA, P., ARCHANA, P. R., ALEENA, J., SEJIAN, V., KRISHNAN, G., BAGATH, M., MANIMARAN, A., BEENA, V., KURIEN, E. K., VARMA, G., & BHATTA, R. Heat stress and dairy cow: impact on both milk yield and composition. **Int. J. Dairy Sci**, v. 12, n. 1, p. 1-11, 2017.

POULSEN, N. A., SZEKERES, B. D., KARGO, M., & LARSEN, L. B. Mineral and fatty acid composition of milk from native Jutland and Danish Red 1970 cattle breeds. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section A—Animal Science**, p. 1-5, 2019.

RADZYMIŃSKA, M., SMOCZYŃSKI, S. S., & KOPEĆ, M. Persistent Organochlorine Pesticide, Lead, Cadmium, Nitrate (V) and Nitrate (III) in Polish Milk and Dairy Products. **Polish Journal of Environmental Studies**, v.17, n.1, 2008.

RAFIQ, S., HUMA, N., PASHA, I., SAMEEN, A., MUKHTAR, O., & KHAN, M. I. Chemical composition, nitrogen fractions and amino acids profile of milk from different animal species. **Asian-Australasian journal of animal sciences**, v. 29, n. 7, p. 1022, 2016.

REIS, C. B. M., BARREIRO, J. R., MESTIERI, L., FELÍCIO PORCIONATO, M. A., & SANTOS, M. V. Effect of somatic cell count and mastitis pathogens on milk composition in Gyr cows. **BMC veterinary research**, v. 9, n. 1, p. 67, 2013.

RIGBY, D., WOODHOUSE, P., YOUNG, T., & BURTON, M. Constructing a farm level indicator of sustainable agricultural practice. **Ecological economics**, v.39, n.3, p.463-478, 2001.

RIGOUT, S., LEMOSQUET, S., VAN EYS, J. E., BLUM, J. W., & RULQUIN, H. Duodenal glucose increases glucose fluxes and lactose synthesis in grass silage-fed dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 3, p. 595-606, 2002.

SANTOS, J. S., BECK, L., WALTER, M., SOBCZAK, M., OLIVO, C. J., COSTABEBER, I., & EMANUELLI, T. Nitrato e nitrito em leite produzido em sistemas convencional e orgânico. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v.25, n.2, p.304-309, 2005.

SCHWENDEL, B. H., WESTER, T. J., MOREL, P. C. H., TAVENDALE, M. H., DEADMAN, C., SHADBOLT, N. M., & OTTER, D. E. Invited review: Organic and conventionally produced milk—An evaluation of factors influencing milk composition. **Journal of dairy science**, v. 98, n. 2, p. 721-746, 2015.

SCHUKKEN, Y. H., WILSON, D. J., WELCOME, F., GARRISON-TIKOFSKY, L., & GONZALEZ, R. N. Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. **Veterinary research**, v. 34, n. 5, p. 579-596, 2003.

SIMOS, Y., METSIOS, A., VERGINADIS, I., D'ALESSANDRO, A. G., LOIUDICE, P., JIRILLO, E., CHARALAMPIDIS, P., KOUIMANIS, V., BOULAKA, A., MARTEMUCCI, G., & KARKABOUNAS, S. Antioxidant and anti-platelet properties of milk from goat, donkey and cow: An in vitro, ex vivo and in vivo study. **International dairy journal**, v. 21, n. 11, p. 901-906, 2011.

SINDELAR, J. J., & MILKOWSKI, A. L. Human safety controversies surrounding nitrate and nitrite in the diet. **Nitric oxide**, v.26, n.4, p.259-266, 2012.

SINGH, A., NAYAK, S., BAGHEL, R., KHARE, A., MALAPURE, C. D., THAKUR, D., & SINGH, B. P. Dietary manipulations to alter milk fat composition. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 6, n. 2, p. 176-181, 2018.

SUTTON, J. D. Altering milk composition by feeding. **Journal of dairy science**, v. 72, n. 10, p. 2801-2814, 1989.

VILLAR, M. L., HEGARTY, R. S., NOLAN, J. V., GODWIN, I. R., & MCPHEE, M. The effect of dietary nitrate and canola oil alone or in combination on fermentation, digesta kinetics and methane emissions from cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v.259, p.114294, 2020.

XUE, T., CHEN, X., & SHANG, F. Effects of lactose and milk on the expression of biofilm-associated genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from a dairy cow with mastitis. **Journal of dairy science**, v. 97, n. 10, p. 6129-6134, 2014.

XUE, M. Y., SUN, H. Z., WU, X. H., GUAN, L. L., & LIU, J. X. Assessment of rumen bacteria in dairy cows with varied milk protein yield. **Journal of dairy science**, v. 102, n. 6, p. 5031-5041, 2019.

WRIGHT, M. J., & DAVISON, K. L. Nitrate Accumulation In Crops And Nitrate Poisoning In Animals. **Advances in Agronomy**, p.197–247, 1964.

YILMAZ-ERSAN, L., OZCAN, T., AKPINAR-BAYIZIT, A., & SAHIN, S. Comparison of antioxidant capacity of cow and ewe milk kefir. **Journal of dairy science**, v. 101, n. 5, p. 3788-3798, 2018.

ZULUETA, A., MAURIZI, A., FRIGOLA, A., ESTEVE, M. J., COLI, R., & BURINI, G. Antioxidant capacity of cow milk, whey and deproteinized milk. *International Dairy Journal*, v. 19, n. 6-7, p. 380-385, 2009.

II. OBJETIVOS GERAIS

O objetivo geral proposto para este trabalho foi de analisar e comparar a composição química do leite individual de vacas criadas em sistema agroecológico e convencional no norte e oeste do Paraná. Além disso, caracterizar propriedades leiteiras em função ao N-ureico do leite coletado do tanque e correlacionar essa medida com práticas de manejo adotadas pelas propriedades avaliadas.

III. Avaliação da composição química, atividade antioxidante e quantificação dos teores de nitrato e nitrito no leite produzido em sistemas agroecológico e convencional

(Estilo e forma do manuscrito de acordo com as Instruções para Autores da Journal of dairy research)

Resumo:

O sistema de produção de leite agroecológico está em crescimento no Brasil, entretanto na literatura há poucos estudos que elucidam a diferença da presença de nitrato e nitrito e composição do leite bovino produzido no sistema agroecológico e no sistema convencional. Visto as diferentes práticas adotadas em cada sistema, espera-se que a qualidade do leite de vacas, em função da sua composição química e a CCS, e contaminantes como nitrato e nitrito, apresentem diferenças. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo comparar a composição química e os teores de nitrato e nitrito no leite de vacas criadas em sistema agroecológico e convencional. Foram avaliadas 12 propriedades rurais inseridas no sistema convencional e 10 no sistema agroecológico. Assim, investigou-se a composição química, contagem de células somáticas (CCS), determinação da capacidade antioxidante total (TAC), quantificação de nitrato e nitrito do leite *in natura* de vacas (n=148). A capacidade total antioxidante realizada pelo ensaio com 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) demonstrou valores de $6,31 \pm 0,55\%$ para o sistema agroecológico e $6,64 \pm 0,44\%$ para o sistema convencional. Análises com 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico) (ABTS) indicaram valores de $6,63 \pm 0,28\%$ e $6,48 \pm 0,20\%$, para sistema agroecológico e convencional, respectivamente. Os resultados obtidos para nitrato nas amostras provenientes dos sistemas agroecológico e convencional foram, respectivamente, $0,15 \pm 0,03 \text{ mg/L}$ e $0,17 \pm 0,02 \text{ mg/L}$. Para os teores de nitrito foram encontrados valores de $0,05 \pm 0,03 \text{ mg/L}$ e $0,07 \pm 0,02 \text{ mg/L}$. Os valores de composição química se encontraram de acordo com outros estudos. No entanto, a média da contagem de células somáticas tanto o sistema agroecológico ($793,55 \pm 465,82$) quanto o convencional ($1149,55 \pm 326,48$) apresentaram valores altos, indicando processo inflamatório na glândula mamária dos animais avaliados. Apesar dos sistemas avaliados conduzirem práticas de produção diferentes, para os parâmetros avaliados (composição de leite, CCS, TAC, nitrato e nitrito), não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$) ao comparar-se os dois sistemas de produção.

Palavras-chave: Composição do leite *in natura*, contaminantes do leite, nitrato, nitrito, produção de leite convencional, produção sustentável.

Introdução

O leite é um alimento que contém macro e micronutrientes que são fonte básica de energia e componentes nutricionais para os seres humanos (Yilmaz-Ersan *et al.*, 2018), como proteínas, minerais e vitaminas (Muruz & Çetinkaya, 2019). A composição química e a contagem de células somáticas (CCS) desempenham papel fundamental no monitoramento da qualidade do leite produzido (Cinar *et al.*, 2015; Sharma *et al.*, 2011).

Sendo assim, é importante a realização do controle periódico de quadros de mastite subclínica em vacas (inflamação na glândula mamária) (Silva-Junior *et al.*, 2019), pois esta enfermidade influencia na produção total de leite e modifica negativamente a sua composição (Ogola *et al.*, 2007; Auldism *et al.*, 1998). Diante disso, várias estratégias são importantes para prevenir o aumento de CSS e ocorrência de manifestações de mastite, entre elas, o uso de selantes e antissépticos de tetos (Sharma *et al.*, 2011) em conjunto com a implementação da desinfecção de tetos após a ordenha (Deb *et al.*, 2013).

Além do aumento da CCS, a mastite está associada à liberação de radicais livres com a diminuição da capacidade antioxidante total (TAC) no leite (Yang & Li, 2015), que normalmente possui vários compostos que apresentam potencial antioxidante, como vitaminas (A, C e E), carotenoides, ácido úrico, ácidos linoleicos conjugados, catalase, superóxido dismutase, glutathione peroxidase, proteínas (caseína, lactoferrina, α -Lactalbumina (α -LA), β -Lactoglobulina (β -LG) e aminoácidos (*tirosina, cisteína, triptofano, lisina*) (Pihlanto, 2006; Yilmaz-Ersan, *et al.*, 2018).

O potencial antioxidante do leite também pode ser afetado pela alimentação das vacas (Lindmark-Månsson & Åkesson, 2000) podendo ser transferidos a partir da dieta (Havemose *et al.*, 2004) e da suplementação para o leite (Nicholson & St-Laurent, 1991). De acordo com alguns estudos, a quantidade de antioxidante no leite de vacas aumenta à medida que a quantidade de forragem verde na dieta é aumentada (Grega *et al.*, 2005; La Terra *et al.*, 2010). De acordo com Castillo *et al.* (2013) a agricultura sustentável, também pode alterar a TAC.

A dieta das vacas também influencia o teor de nitrato e nitrito do leite, visto que, quando aumentado a ingestão de alimentos que contenham esses compostos, pode ocorrer sua transferência para o leite (Radzymińska *et al.*, 2008). Os teores de nitrato e nitrito no leite *in natura* também podem ser influenciados pelo local de origem da amostra (Zbikowski *et al.*, 2000), que está intimamente ligado com as características físicas e geográficas da propriedade.

Sabe-se que a presença dessas substâncias nos alimentos lácteos é indesejável, pois tem vínculo direto com a saúde dos consumidores (Nag, 2010). Após a ingestão de nitrato por seres humanos, pode haver reações com aminas secundárias presentes no trato gastrointestinal, que são potencialmente carcinogênicas (Chamandust *et al.*, 2016; Hord *et al.*, 2009). Além disso, quando ingerido em níveis elevados o nitrito é capaz de causar formação de metahemoglobina em humanos (Cockburn *et al.*, 2013).

Visto a importância do leite na produção de alimentos para bebês e crianças, a concentração de nitrato e nitrito se tornou grande preocupação para a saúde humana (Baranova *et al.*, 1993).

Em suma, uma infinidade de fatores exerce influência na composição final do leite, incluindo genética, raça do animal, ambiente, estágio de lactação, paridade e nutrição da vaca (Jenkins & Mcguire, 2006).

Dessa forma, objetivou-se no presente trabalho observar as diferenças na composição do leite *in natura* de vacas criadas em diferentes sistemas de produção, o agroecológico e o convencional. Visto as diferentes práticas adotadas em cada sistema, espera-se que a qualidade do leite de vacas, em função da sua composição química e a CCS apresentem diferenças. Com relação ao Nitrato/Nitrito e TAC, espera-se que os animais mantidos em sistemas de produção agroecológico apresentem menor teor de nitrato e nitrito no leite e maiores valores de TAC.

Materiais e Métodos

Propriedades avaliadas

Foram coletadas 148 amostras de leite *in natura* provenientes de 22 propriedades familiares localizadas na região norte e oeste do Paraná (sul do Brasil) categorizados em dois sistemas de produção diferentes: agroecológico e convencional. Sendo, 10 propriedades inseridas no sistema agroecológico e 12 no sistema de produção convencional. A visita as propriedades avaliadas foram realizadas uma única vez, durante o mês de outubro de 2018 a outubro de 2019.

As propriedades agroecológicas estavam localizadas: Palotina, Paranacity, Marechal Candido Rondon, Maripá, Jandaia do Sul e Mandaguaçu. As propriedades convencionais localizavam-se nas cidades de: Iguaraçu, Palotina, Iguatemi, Maringá e Nova Santa Rosa.

As propriedades foram escolhidas de acordo com a localização e o sistema de produção, sendo os critérios: Norte ou Oeste do Paraná, sistema agroecológico ou convencional, a partir de listas de contatos fornecidas pela Emater, Centro de Apoio e Promoção da Agroecologia (CAPA) e produtores rurais que indicavam outros produtores de leite.

As propriedades inseridas no sistema agroecológico com enfoque agroecológico consideram para a produção o agroecossistema de forma integrada, buscando sua sustentabilidade, ou seja, com o menor impacto ambiental possível (Nunes *et al.*, 2010), fomentando a agricultura familiar e preservando os recursos naturais. Além disso, não faziam uso pesticidas e grãos oriundos de plantações em que as sementes usadas sofrem processo de organismos geneticamente modificados (OGM), fertilizantes químicos ou monocultura.

Coleta de amostras de leite

O leite foi coletado das vacas ordenhadas de forma asséptica. Após lavados de acordo com a prática adotada por cada ordenhador, os tetos eram secos com papel toalha ou pano coletivo, posteriormente os primeiros jatos de leite eram descartados e coletados uma amostra representativa no final da ordenha, que foi homogeneizada, de forma que estivesse mais próximo das coletas feitas em propriedades que dispunham coletor individual. Nas propriedades que dispunham de coletor individual de leite, obtinha-se uma amostra total do leite ordenhado no final da ordenha, e a assepsia era feita de acordo com o ordenhador. É importante ressaltar que as práticas de higiene e ordenha para assepsia dos tetos e coleta do leite não foram alteradas das praticadas pelos produtores, com o intuito de minimizar o estresse dos animais e não alterar a rotina dos ordenhadores.

As amostras coletadas para determinação da TAC, nitrato e nitrito foram mantidas congeladas até o momento das análises. As amostras coletadas e armazenadas com conservante bronopol[®] foram enviadas para análise no Laboratório Central do Programa de Análise de Rebanhos Leiteiros do Paraná (PARLPR), da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa, para realização da determinação da contagem de células somáticas (CCS) e composição química do leite (NUL, proteína, gordura, lactose, sólidos totais).

Para análise da composição química do leite foram utilizadas 33 amostras de leite do SPL agroecológico e 107 amostras de leite do SPL convencional.

É evidente o menor número de amostras de animais criados em sistema agroecológico do que os animais criados em sistema convencional, pois as propriedades agroecológicas visitadas apresentavam um número menor de animais.

Para determinação de TAC foram utilizadas 40 amostras de SPL agroecológicos e 105 amostras de SPL convencional. Já para a determinação de nitrato e nitrito foram utilizadas 41 amostras de leite de vacas inseridas em SPL agroecológico e 107 amostras de leite de animais inseridos no SPL convencional.

Reagentes

Os reagentes 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) e o N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride foram adquiridos da Sigma-Aldrich® (USA). O persulfato de potássio foi obtido da empresa Acros Organics (New Jersey – US), o cádmio granulado (metal puro) da marca Dinâmica (Indaiatuba - SP), o álcool etílico 99,5 P.A., álcool metílico P.A.-A.C.S. 100% e o ácido sulfanílico da marca Synth (Diadema – SP). O alfa-naftol (1-Naftol) da INLAB (São Paulo – SP), e o hidróxido de sódio e o sulfato de zinco adquiridos da Fmaia (Belo Horizonte – MG).

Equipamentos

Para avaliar a TAC e o nitrato foi utilizado espectrofotômetro de absorção eletrônica UV-vis modelo Evolution 300 - Thermo Fisher Scientific (Massachusetts, United States). A determinação de nitrito foi realizada com leitor de microplacas VersaMax Molecular Devices (Sunnyvale, CA). As análises para determinar a composição química e quantidade de ureia foram realizadas com espectrômetro de infravermelho Bentley FTS- Bentley Instruments® (Minnesota – USA). O Percentual de CCS foi estimado por citometria de fluxo por meio do contador eletrônico Somacount FCM (Bentley Instruments®).

Determinação da composição química do leite, nitrogênio ureico no leite e contagem de células somáticas no leite

A determinação da composição química (gordura, lactose, proteína, sólidos totais) e NUL foram realizadas de acordo com a ISO 9622 / IDF 141 (IDF, 2012), utilizando o método infravermelho.

Para a determinação de CCS, utilizou-se o método de citometria de fluxo, seguindo a ISO 13366-2 / IDF 148-2 (IDF, 2006). Posteriormente para análise estatística, os dados de CCS foram transformados em Log na base 10.

Capacidade antioxidante total do leite

A TAC no leite foi realizada medindo a redução dos radicais DPPH e ABTS. A atividade de DPPH foi medida de acordo com o método descrito por Li *et al.* (2009). Em que, 100 μ L do extrato foi misturado com 1900 μ L de soluções metanolicas contendo 0,06 mM do Radical de DPPH e mantida no escuro por 30 min. A absorbância foi medida em 515 nm e a atividade antioxidante foi calculada de acordo com a equação 1:

$$\% \text{ DPPH} = (1 - (A_t/A_0)) \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Em que, A_0 é a absorbância inicial da amostra e A_t é a absorbância da amostra após 30 minutos.

A atividade de ABTS (Dong *et al.*, 2015) foi determinada seguindo a metodologia proposta por Fellegrini *et al.* (1999). A absorbância da solução ABTS foi medida a 734 nm. A TAC foi calculada pela equação 2:

$$\% \text{ ABTS} = (1 - (A_t/A_0)) \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

Em que A_0 é absorbância inicial da amostra e A_t é absorbância da amostra após 6 minutos.

Determinação de nitrato no leite

A determinação do nitrato no leite foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Cortas & Wakid (1990), com algumas adaptações de Teixeira *et al.* (2014), para o uso da curva analítica. A desproteíntização do leite foi feita mediante a adição ZnSO_4 a 75 mmol/L e NaOH a 55 mmol/L. Após repouso de 10 minutos as amostras foram centrifugadas a 3.000 r.p.m. durante 15 minutos. Após 90 minutos de redução com grânulos de cádmio, o nitrato foi determinado pela leitura da absorbância a 545 nm. A quantificação foi realizada pela obtenção da curva padrão obtida na faixa de concentração de 0 a 2 mg/L com coeficiente de determinação (R^2) de 0,99850.

Determinação de nitrito no leite

Para a determinação de nitrito no leite foi utilizado o método clássico de Griess (Griess, 1879). Realizou-se a desproteíntização do leite de acordo com Cortas & Wakid (1990) com algumas adaptações, adicionando a 1 mL de leite, 1 mL de ZnSO_4 75 mM e 1 mL de NaOH 55 mM. Após, as amostras permaneceram em repouso por 10 minutos e

foram centrifugadas a 6.000 r.p.m. a 4°C graus, durante 30 minutos. Posteriormente, o sobrenadante foi filtrado em filtro de membrana PES 0,22 µm, e utilizado para a análise. Após 10 minutos da ação da solução de sulfanilamida na amostra desproteinizada, adicionou-se a solução de N-1-naphitiletenodiamida e realizou-se a leitura no leitor de microplacas com o comprimento de onda de 540 nm.

Análise Estatística

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando o procedimento MIXED do SAS (Statistical Analysis System, 9.3) de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + a_j + e_{ij}$$

Com $a_j \approx N(0, \sigma_a^2)$ e $e_{ij} \approx N(0, \sigma_e^2)$, em que Y_{ij} é o valor observado; μ é a média geral; T_i é o efeito fixo de tratamento ($i =$ Convencional e Agroecológico); a_j é o efeito aleatório do animal; e_{ij} é o erro residual; N indica distribuição normal; σ_a^2 e σ_e^2 são as variâncias associada aos efeitos aleatórios de animal e variância residual, respectivamente. A comparação de médias foi feita pelo teste de Tukey, foi considerado como nível de significância de $P \leq 0,05$ e tendência de $P \leq 0,10$.

Submissão ao comitê de ética

Todos os procedimentos de manuseio de animais estavam de acordo com as normas éticas previamente aprovadas pelo Comitê de Ética Animal da Universidade Estadual de Maringá (protocolo - CEUA nº. 3103111018).

Resultados

Não foi observado diferença significativa entre os sistemas avaliados com relação a composição físico-química das amostras de leite avaliadas (Tabela 1).

Tabela 1. Composição química do leite de vacas submetidas a diferentes sistemas de produção (agroecológico e convencional).

Item	Agroecológico (n=33)	Convencional (n=107)	P – Valor
CCS (\log^{10})	2,31 \pm 0,17	2,42 \pm 0,12	0,5983
GORDURA (g/100g)	3,41 \pm 0,45	3,24 \pm 0,37	0,7722
PROTEÍNA (g/100g)	3,26 \pm 0,09	3,31 \pm 0,06	0,7021
NUL (mg/dL)	12,60 \pm 1,72	11,33 \pm 1,41	0,5734
LACTOSE (g/100g)	4,18 \pm 0,13	4,29 \pm 0,10	0,5196
SÓLIDOS TOTAIS (g/100g)	11,79 \pm 0,57	11,83 \pm 0,46	0,9625

Os valores de CCS, Gordura, Proteína, NUL, Lactose e Sólidos Totais são apresentados como média \pm erro padrão
n = número de amostras analisadas em cada sistema (Agroecológico e Convencional).

Os resultados obtidos para percentual de DPPH e ABTS (Tabela 2), também não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) quando comparadas as amostras de leite dos sistemas agroecológico e convencional.

Tabela 2. DPPH (%) e ABTS (%) em amostras de leite segundo o sistema de produção (agroecológico e convencional).

Item	Agroecológico (n= 40)	Convencional (n= 105)	P – Valor
DPPH (%)	6,31 \pm 0,55	6,64 \pm 0,44	0,6537
ABTS (%)	6,63 \pm 0,28	6,48 \pm 0,20	0,6829

Os valores de DPPH e ABTS são apresentados como média \pm erro padrão

n = número de amostras analisadas em cada sistema (Agroecológico e Convencional).

Na Tabela 3 constam os valores obtidos na determinação de Nitrato e Nitrito (mg/L) em amostras de leite segundo o sistema de produção (agroecológico e convencional).

Tabela 3. Determinação de Nitrato e Nitrito (mg/L) em amostras de leite segundo o sistema de produção (agroecológico e convencional).

Item	Agroecológico (n = 41)	Convencional (n = 107)	P – Valor
Nitrato (mg/L)	0,15 ± 0,03	0,17 ± 0,02	0,6392
Nitrito (mg/L)	0,05 ± 0,03	0,07 ± 0,02	0,6116

Os valores de nitrato e nitrito são apresentados como média±erro padrão

n = número de amostras analisadas em cada sistema (Agroecológico e Convencional) e representa o número de vacas amostradas.

Discussão

Lactose

Com relação ao teor de lactose, tanto para o sistema agroecológico quanto para o sistema convencional apresentaram valores muito próximos e estatisticamente não significativos (Tabela 1). Fato que pode ocorrer pelos quadros de mastite (Reis *et al.*, 2013), pois, segundo Auld *et al.* (1998) há perda de lactose do leite pelas vias paracelulares que se proliferam durante manifestações de mastite. Ainda, a concentração de lactose pode ser alterada em situações extremas e incomuns de alimentação (Jenkins & McGuire, 2006).

O conteúdo de lactose está correlacionado com as proteínas (e gordura), uma vez que a biossíntese de ambos é processada nas mesmas células na glândula mamária (Rajčević *et al.*, 2003). Park *et al.* (2007) observou que o leite de vacas com mastite apresenta menor teor de lactose. O número de paridade também influencia o teor de lactose no leite de vaca, sendo que a porcentagem de lactose diminui com o maior número de paridade (Miglior *et al.*, 2006).

De acordo com um estudo realizado por Heck *et al.* (2009), em que foi determinado a composição do leite de vaca Holandês (n=52) em relação a variação sazonal do leite, foi observado variação de 4,46 a 4,55 g/100 g de lactose. Os valores encontrados por Heck *et al.* (2009) são maiores do que as médias encontradas nesse trabalho.

Visto que o manejo e alimentação dos sistemas avaliados são parecidos, justifica o fato de que não há diferença significativa para o valor de lactose quando comparado os SPL.

Contagem de células somáticas

Os valores médios obtidos de CCS do leite de vacas criadas em sistema agroecológico e convencional apresentaram valores muito próximos. Sabe-se que o gerenciamento e a higiene da fazenda são essenciais para garantir a saúde do úbere, sendo as rotinas higiênicas de ordenha particularmente importantes (Firth *et al.*, 2019) para evitar o aumento do valor de CCS no plantel. Além disso, fatores como interação entre os agentes infecciosos, más práticas de manejo, genética e ambiente influenciam no aumento do CCS (Hisira *et al.*, 2019).

Em um trabalho realizado por Machado *et al.* (2000), foram avaliadas 7941 amostras de leite, obtendo a média de 641 mil cél. mL⁻¹, valor esse menor do que a média encontrada neste trabalho tanto para o sistema agroecológico como para o convencional.

Gordura, proteína e sólidos totais

Os valores encontrados neste estudo são semelhantes à média encontrada por Doska *et al.* (2012), que foi de 3.40 g/100g de gordura, 3.13 g/100g de proteína e 12 g/100g de sólidos totais. Essa semelhança, provavelmente, deve-se ao fato que os animais avaliados, independente do sistema de produção, recebiam dieta adequada suprimindo suas necessidades nutricionais e de produção.

É importante ressaltar que a maioria dos animais utilizados neste estudo eram da raça holandês com média a baixa produção de leite.

Capacidade total antioxidante do leite

Para as amostras provenientes de sistema agroecológico e convencional não foi observada diferença significativa. Os resultados obtidos de DPPH contidos no leite para ambos sistemas, agroecológico e convencional foram menores que 8,75% valor obtido por Jafari *et al.* (2017). Para ABTS os resultados obtidos neste trabalho foram menores do que o encontrado por Yilmaz-Ersan *et al.*, (2018), de 21,48% para leite *in natura*. Visto os benefícios dos antioxidantes na alimentação humana (redução ou prevenção de

diferentes tipos de câncer, doenças cardiovasculares e doenças neurológicas, arteriosclerose e distúrbios relacionados ao envelhecimento) (Jafari *et al.*, 2017), um elevado potencial antioxidante no leite faz com que o seu valor seja agregado (Castillo *et al.*, 2013).

O uso de antioxidante natural, como suplemento na dieta de vacas leiteiras podem ser transferidos para o leite. De acordo com Khan *et al.*, (2019) atividade antioxidante do leite pode ser aumentada por suplementação de fitoquímicos. Dessa forma, pela similaridade no manejo alimentar dos animais e a provável semelhança em teor de antioxidantes da dieta, justifica-se a semelhança de TAC para os sistemas estudados.

Nitrogênio ureico no leite (NUL)

Em relação ao teor de NUL, este se encontra de acordo com valores reportados na literatura (Kananub *et al.*, 2018; Bondan *et al.*, 2019). Em um estudo com o objetivo de mensurar a ureia de leite de mais de 1.200 vacas para avaliar a associação entre NUL e fertilidade de vacas leiteiras foi observado o valor médio de 12,6 mg/dL NUL (Rajala-Schultz *et al.*, 2001), similar a média encontrada para ambos sistemas neste trabalho. Em outro experimento em que foi avaliado a concentração média quadrada de NUL em propriedades leiteiras foi observado valores médios de 12,4 mg/dL ($\pm 3,01$ DP; n=1138) (Jonker *et al.*, 2002).

Nitrato e nitrito no leite

Os valores de nitrato e nitrito verificados no presente estudo, foram menores do que os obtidos por Santos *et al.* (2005), em um estudo em que se investigou os níveis de nitratos e nitritos em amostras de leite *in natura*, de vacas submetidas aos sistemas de manejo convencional e orgânico, na Região da Depressão Central do Rio Grande do Sul, Brasil, os teores médios de nitrato e nitrito encontrados nas amostras (n=45) foram de $6,65 \pm 0,84$ mg/L e $1,76 \pm 0,17$ mg/L, respectivamente.

De acordo com a IDA (Ingestão Diária Aceitável), que é estabelecida pelo JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives), o valor de nitrato aceitável para o consumo humano é 0-3,7 mg/kg de peso corporal e o de nitrito é de 0-0,07 mg/kg de peso corporal. Os teores de nitrato e nitrito para o sistema agroecológico se encontram de

acordo com as normas da IDA, no entanto, para o sistema convencional a presença de nitrito no leite se encontra acima de (0,07680 mg/L) do valor máximo regulamentado pela IDA. Fator este considerado preocupante, visto que o leite de vaca é também uma fonte de alimento para bebês e crianças.

Conclusão

Não houve diferenças significativas para os sistemas avaliados, na composição do leite, na $CCS_{\log 10}$, no TAC, ainda que conduzissem práticas de manejo diferentes. Provavelmente, devido a dieta empregada serem semelhante pelas propriedades avaliadas, visto que, a dieta é um fator de grande influência na composição do leite, justificando a semelhança entre o produto advindo de ambos sistemas. Apesar dos sistemas não influenciarem na composição de leite, sabe-se que a agricultura agroecológica preconiza práticas sustentáveis, justificando a escolha do consumidor por produto advindo de produção agroecológica.

Reconhecimentos: Os autores gostariam de reconhecer o apoio do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, Núcleo Pluridisciplinar de Pesquisa e Estudo de Cadeia Produtiva de Leite (NUPEL), Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para a Cadeia Produtiva do Leite (INCT-LEITE), Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa, Fundação Araucária e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Referências:

Auldist MJ e Hubble IB (1998) Effects of mastitis on raw milk and dairy products. *Australian journal of dairy technology* **53**, 28-36.

Baranova M, Mal'a P e Burdova O (1993) Transport of nitrates and nitrites into the milk of dairy cows through the digestive system. *Veterinarni medicina* **38**, 581-588.

Bondan C, Folchini JA, Noro M, Machado KM, Muhls E e González FHD (2019) Variation of cow's milk composition across different daily milking sessions and feasibility of using a composite sampling. *Ciência Rural* **49**, 1-6.

Castillo C, Pereira V, Abuelo Á e Hernández J (2013) Effect of supplementation with antioxidants on the quality of bovine milk and meat production. *The Scientific World Journal* **2013**, 1-8.

Cinar M, Serbester U, Ceyhan A e Gorgulu M (2015) Effect of somatic cell count on milk yield and composition of first and second lactation dairy cows. *Italian Journal of Animal Science* **14**, 105-108.

Cockburn A, Brambilla G, Fernández ML, Arcella D, Bordajandi LR, Cottrill B, Peteghem CV e Dorne JL (2013) Nitrite in feed: from animal health to human health. *Toxicology and applied pharmacology* **270**, 209-217.

Cortas NK e Wakid NW (1990) Determination of Inorganic Nitrate in Serum and Urine By a Kinetic Cadmium – Reduction Method. *Clinical Chemistry* **36**, 1440-1443.

Deb R, Kumar A, Chakraborty S, Verma AK, Tiwari R, Dhama K, Singh U e Kumar S (2013) Trends in diagnosis and control of bovine mastitis: a review. *Pak J Biol Sci* **16**, 1653-1661.

Dong JW, Cai L, Xing Y, Yu J e Ding ZT (2015) Re-evaluation of ABTS•+ Assay for Total Antioxidant Capacity of Natural Products. *Natural product communications* **10**, 2169-2172.

Doska MC, Silva DFFD, Horst JA, Valloto AA, Rossi Junior P e Almeida RD (2012) Sources of variation in milk urea nitrogen in Paraná dairy cows. *Revista Brasileira de Zootecnia* **41**, 692-697.

Fellegrini N, Ke R, Yang M e Rice-Evans C (1999) Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2, 2'-azinobis (3-ethylenebenzothiazoline-6-sulfonic acid radical cation decolorization assay. In: *Methods in enzymology. Academic Press* **299**, 379-389.

Firth CL, Laubichler C, Schleicher C, Fuchs K, Käsbohrer A, Egger-Danner C, Köfer J e Obritzhauser W (2019) Relationship between the probability of veterinary-diagnosed bovine mastitis occurring and farm management risk factors on small dairy farms in Austria. *Journal of dairy science* **102**, 4452-4463.

Teixeira AL, Nascimento AP, Souza DFF e Maia PP (2014) Avaliação dos níveis de nitrato e nitrito em amostras de bebidas lácteas comercializados na cidade de Lavras/MG. *Revista da Universidade Vale do Rio Verde* **12**, 85-89.

Grega T, Sady M, Najgebauer D, Domagala J, Pustkowiak H e Faber B (2005) Factors affecting the level of conjugated linoleic acid (CLA) in milk from different cow's breeds. *Biotechnology in Animal Husbandry* **21**, 241–244

Griess P (1879) Bemerkungen zu der Abandlung der H. N. Weselsky und Benedikt 'Über einige Azoverbindungen'. *Ber. dt. chem. Ges. Bd* **12**, 426–8.

Havemose MS, Weisbjerg MR, Bredie WL e Nielsen JH (2004) Influence of feeding different types of roughage on the oxidative stability of milk. *International Dairy Journal* **14**, 563-570.

Heck JML, Van Valenberg HJF, Dijkstra J e Van Hooijdonk ACM (2009) Seasonal variation in the Dutch bovine raw milk composition. *Journal of dairy science* **92**, 4745-4755.

International Dairy Federation (IDF) (2006) **Milk—Enumeration of somatic cells**. Part 2: Guidance on the operation of fluoro-opto-electronic counters. ISO 13366-2/IDF 148. Brussels, Belgium: International Dairy Federation.

International Dairy Federation (IDF) (2012) **Milk and liquid milk products—Guidelines for the application of mid-infrared spectrometry**. IDF norm 141. ISO/DIS 9622:2012. Brussels, Belgium.

Hisira V, Klein R, Kadaši M e Pošivák J (2019) Relationship between somatic cell count and occurrence of intramammary pathogens in dairy cows. *Біологія тварин* **21**, 25-28.

Hord NG, Tang Y e Bryan NS (2009) Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potential health benefits. *The American journal of clinical nutrition* **90**, 1-10.

Jafari M, Khaniki GJ, Roshanzamir M e Sadighara P (2017) Antioxidant activity of raw milk and dairy products commonly consumed in Fars province, Iran. *Journal of Food Safety and Hygiene* **3**, 21-26.

Jenkins TC e McGuire MA (2006) Major advances in nutrition: impact on milk composition. *Journal of Dairy Science* **89**, 1302-1310.

Jonker JS, Kohn RA e High J (2002) Use of Milk Urea Nitrogen to Improve Dairy Cow Diets. *Journal of dairy science* **85**, 939-946.

Kananub S, Vanleeuwen JA e Arunvipas P (2018) Association between milk urea nitrogen and first service conception in smallholder dairy farms under heat and humidity stress. *Veterinary world* **11**, 1604.

Khan IT, Nadeem M, Imran M, Ullah R, Ajmal M e Jaspal MH (2019) Antioxidant properties of Milk and dairy products: a comprehensive review of the current knowledge. *Lipids in health and disease* **18**, 1-13.

La Terra S, Marino VM, Manenti M, Licitra G e Carpino S (2010) Increasing pasture intakes enhances polyunsaturated fatty acids and lipophilic antioxidants in plasma and milk of dairy cows fed total mix ration. *Dairy science & technology* **90**, 687-698.

Li W, Hydamaka A, Lowry L e Beta T (2009) Comparison of antioxidant capacity and phenolic compounds of berries, chokecherry and seabuckthorn. *Central European Journal of Biology* **4**, 499–506.

Lindmark-Månsson H e Åkesson B (2000) Antioxidative factors in milk. *British journal of Nutrition*, **84**, 103-110.

Machado PF, Pereira AR, Silva LFP e Sarriés GA (2000) Células somáticas no leite em rebanhos brasileiros. *Scientia Agrícola* **57**, 359-361.

Miglior F, Sewalem A, Jamrozik J, Lefebvre DM, Moore RK (2006) Analysis of milk urea nitrogen and lactose and their effect on longevity in Canadian dairy cattle. *Journal of dairy Science*, **89**, 4886-94.

Muruz H e Çetinkaya N (2019) The effect of dairy cow feeding regime on functional milk production. *International Advanced Researches and Engineering Journal* **3**, 1-6.

Nag SK (2010) Pesticides, veterinary residues and other contaminants in milk. In: Improving the safety and quality of milk. *Woodhead Publishing*, 113-145.

Nunes JS, Martins SR, Borba MR e Muelbert B (2017) Sustentabilidade de agroecossistemas familiares com produção de peixes na perspectiva agroecológica. *Revista Brasileira de Agroecologia* **12**, 275-286.

Ogola H, Shitandi A & Nanua J (2007) Effect of mastitis on raw milk compositional quality. *Journal of Veterinary Science* **8**, 237-242.

Park YK, Koo HC, Kim SH, Hwang SY, Jung WK, Kim JM, Shin S, Kim RT, Park YH (2007) The analysis of milk components and pathogenic bacteria isolated from bovine raw milk in Korea. *Journal of dairy Science* **90**, 5405-14.

Pihlanto A (2006) Antioxidative peptides derived from milk proteins. *International dairy journal* **16**, 1306-1314.

Radzymińska M, Smoczyński SS e Kopec M (2008) Persistent Organochlorine Pesticide, Lead, Cadmium, Nitrate (V) and Nitrate (III) in Polish Milk and Dairy Products. *Polish Journal of Environmental Studies* **17**, 95–100.

Rajala-Schultz PJ, Saville WJA, Frazer GS e Wittum TE (2001) Association between milk urea nitrogen and fertility in Ohio dairy cows. *Journal of dairy science* **84**, 482-489.

Rajčević M, Potočnik K, Levstek J (2003) Correlations between somatic cells count and milk composition with regard to the season. *Agriculturae Conspectus Scientificus* **68**, 221-6.

Reis CBM, Barreiro JR, Mestieri L, Felício Porcionato, MA e Santos MV (2013) Effect of somatic cell count and mastitis pathogens on milk composition in Gyr cows. *BMC veterinary research* **9**, 1-7.

Santos JSD, Beck L, Walter M, Sobczak M, Olivo CJ, Costabeber I e Emanuelli T (2005) Nitrato e nitrito em leite produzido em sistemas convencional e orgânico. *Food Science and Technology* **25**, 304-309.

Silva Junior, RC, Campanholi KDSS, Morais FAP, Pozza MSS, Santos GT, Hioka N e Caetano W (2019). Development and applications of safranin-loaded Pluronic® F127 and P123 photoactive nanocarriers for prevention of bovine mastitis: In vitro and in vivo studies. *Dyes and Pigments* **167**, 204-215.

Sharma N, Singh NK e Bhadwal MS (2011) Relationship of somatic cell count and mastitis: An overview. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* **24**, 429-438.

Yang FL e Li XS (2015) Role of antioxidant vitamins and trace elements in mastitis in dairy cows. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research* **2**, 1-9.

Yilmaz-Ersan L, Ozcan T, Akpınar-Bayazit A e Sahin S (2018) Comparison of antioxidant capacity of cow and ewe milk kefir. *Journal of dairy science* **101**, 3788-3798.

World Health Organization (WHO) (2002) Evaluation of certain food additives: fifty-ninth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. In: *Evaluation of certain food additives: fifty-ninth report of the joint FAO/WHO expert committee on food additives*. 153.

Zbikowski Z, Zbikowska A e Baranowska M (2000) Content of nitrates and nitrites in raw milk in different regions of the country. *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny* **51**, 29-35.

III. Caracterização de propriedades leiteiras em função do teor de N-ureico do leite do tanque

(Estilo e forma do manuscrito de acordo com as Instruções para Autores da Revista Semina: Ciências Agrárias)

Destaques: Considerando os clusters analisados não foi encontrada associação positiva entre NUL e o tipo de sistema de produção, apesar de suas práticas distintas. Foi observado diferença significativa ($p < 0,05$) entre os clusters, para o número total de vacas e o número de vacas em lactação nas propriedades avaliadas. Em relação a qualidade do leite analisado foi encontrado diferença significativa ($p < 0,05$) para NUL, gordura e sólidos totais.

Resumo

O Paraná é um dos maiores produtores de leite do Brasil, ocupando o segundo lugar no ranking brasileiro de produção de leite. Essa atividade no estado apresenta alta significância do ponto de vista socioeconômico. Considerando a representatividade do setor, objetivou-se neste estudo analisar as características das propriedades em função da concentração do nitrogênio ureico do leite (NUL) em propriedades da região norte e oeste do Paraná. O NUL na pecuária leiteira é importante por ser uma ferramenta utilizada para monitorar a efetividade da utilização de proteínas pelas vacas. Visto isso e sabendo o alto custo que a proteína representa na dieta animal, o presente estudo avaliou por meio de questionário características intrínsecas de cada grupo que possam influenciar no teor de NUL. Para isso, foram selecionados, de forma aleatória, 32 propriedades rurais para aplicação de questionário que abordou variáveis qualitativas e quantitativas. As propriedades foram divididas em três clusters de acordo com o teor de NUL. Os clusters 1, 2 e 3 foram compostos por 19, 4 e 9 produtores, respectivamente. Sendo, o cluster 1 de baixo teor de NUL (8,07 mg/dL), o cluster 2 nível alto de NUL (21,60 mg/dL) e o cluster 3 ao nível intermediário (11,90 mg/dL). Não foi encontrada associação positiva entre NUL e o tipo de sistema de produção. Entretanto, foi verificada diferença ($p < 0,05$) entre os clusters, para o número total de vacas, e o número de vacas em lactação nas propriedades avaliadas. Também foi encontrado diferença ($p < 0,05$) para NUL, gordura e

sólidos totais das amostras de leite avaliadas. Visto que o NUL é altamente influenciado pelo teor de proteína na dieta e as propriedades avaliadas forneciam aos animais uma alimentação com basicamente as mesmas matérias-primas (milho e soja) não é possível afirmar qual fator influenciou o teor de NUL para os grupos estudados.

Palavras-chave: Análise de *Cluster*. Produção de Leite. Sistemas de Produção de Leite.

Introdução

A cadeia produtiva do leite possui grande importância na economia brasileira (Winck & Thaler Neto, 2012) configurando-se como uma atividade tradicional e fundamental (Gurgel & Nunes, 2018), tanto no âmbito econômico quanto social. A pecuária leiteira no estado do Paraná é majoritariamente realizada por meio da agricultura familiar (Casali et al., 2020), que consiste na utilização de mão de obra familiar nas atividades desenvolvidas (Vedana & Moraes, 2018).

Sabe-se há muito tempo, que a ingestão de proteínas na dieta é o fator mais importante na determinação da produção do leite de vaca (Guliński et al., 2016), pois durante a lactação a demanda alimentar por compostos nitrogenados (N) é crítica (Doska et al., 2012; Brun-Lafleur et al., 2010). Visto isso, para averiguar se a dieta fornecida contém um nível adequado de proteína os produtores realizam a mensuração do nitrogênio ureico no leite (NUL) (Guliński et al., 2016; Spek et al., 2012; Jonker & Kohn, 2001), pois uma média de 25% do N na dieta é excretado no leite (Apelo et al., 2014).

O NUL no leite varia consideravelmente e depende de vários fatores (Guliński et al., 2016), como o excesso de proteína contida nas rações, a energia na dieta, desequilíbrio energético:proteico (Jonker & Kohn, 2001) e o momento de amostragem do leite (Spek et al., 2012). O período de lactação também exerce influência sob o teor de NUL, vacas no início da lactação têm uma flora ruminal que não está adaptada à mudança para dietas ricas em proteínas após o parto, dessa forma pode haver aumento de NUL nos primeiros meses de lactação (Stoop et al., 2007).

A compra de ração pelas fazendas leiteiras convencionais muitas vezes leva a entrada substancial de nitrogênio (Cederberg & Mattsson, 2000), a fertilização nitrogenada de pastagens é reconhecida como fator crítico na produção agrícola (Sinclair

et al., 1975) que é intensificado em produções convencionais e pode influenciar o teor de NUL.

Os valores de NUL normalmente são encontrados na literatura entre 10,1mg/dL a 14,45 (Doska et al., 2012; Rajala-Schultz & Saville, 2003; Grande et al., 2009). Entretanto, essas concentrações podem variar de um rebanho para outro, entre clusters de vacas e entre vacas do mesmo rebanho (Doska et al., 2012). Dessa forma, objetivou-se neste estudo avaliar grupos de propriedades leiteiras em função do N-ureico do leite.

Materiais e Métodos

Coleta de dados

Para traçar o perfil das propriedades leiteiras estudadas foi realizado uma escolha aleatória de produtores inseridos em sistemas agroecológicos e convencionais. O estudo se delimitou a estudar propriedades no Estado do Paraná, pela importância que o estado apresenta na produção de leite no país. Os produtores que foram entrevistados possuem propriedades no norte ou oeste do estado do Paraná, nos seguintes municípios: Palotina, Marechal Cândido Rondon, Jandaia do Sul, Paranacity, Santa Fé, Iguatemi, Iguaraçu, Nova Santa Rosa, Floresta, Maringá, Maripá, Mandaguaçu e Sarandi.

As entrevistas e as coletas de leite do tanque foram realizadas de outubro de 2018 a outubro de 2019. A coleta de dados foi feita de maneira presencial, com a visita de um entrevistador à propriedade, através da aplicação, de um questionário semiestruturado com os produtores rurais responsáveis pela atividade leiteira.

Caracterização dos sistemas produtivos leiteiros (SPL)

O questionário (Tabela 1) foi desenvolvido com variáveis que caracterizam o sistema de produção de leite (SPL), como o manejo nutricional e de pastagens. Também, foram estudadas algumas variáveis quantitativas da propriedade (área utilizada para produção de leite e pasto, número de total de vacas, número e porcentagem de vacas em lactação, produção diária de leite e a média de produção de leite por vaca) (Tabela 2).

Os SPL visitados foram obtidos a partir de listas de contatos fornecidas pela Emater, Centro de Apoio e Promoção da Agroecologia (CAPA) e produtores rurais que indicavam outros produtores de leite.

Quadro 1 . Variáveis qualitativas aplicadas aos produtores rurais.

Variáveis	Tipo
Realiza adubação na pastagem? Qual tipo de adubação realizada?	Categórica (1, 2, 3 ou 4) ^a
Qual a frequência de adubação de pastagens?	Categórica (1, 2 ou 3) ^b
No local onde hoje é pasto, havia alguma cultura anterior?	Categórica (1, 2 ou 3) ^c
Faz silagem para as vacas?	Categórica (1 ou 2) ^d
Realização adubação do grão utilizado para silagem? Se sim, qual tipo de adubação?	Categórica (1, 2, 3 ou 4) ^e
Utiliza pastagem temporária?	Categórica (1, 2, 3 ou 4) ^f
Quais ingredientes utilizados no concentrado para as vacas em lactação?	Categórica (1 ou 2) ^g
Como realiza o fornecimento de concentrado para as vacas em lactação?	Categórica (1 ou 2) ^h
Realiza suplementação proteica para as vacas em lactação?	Categórica (1 ou 2) ⁱ
Como realiza o fornecimento de sal lactação para as vacas?	Categórica (1 ou 2) ^j
Realiza irrigação das pastagens?	Categórica (1 ou 2) ^k
Utiliza grão transgênico para a silagem?	Categórica (1 ou 2) ^l
Realiza correção de solo?	Categórica (1 ou 2) ^m
Qual o sistema de criação utilizado para as vacas na propriedade?	Categórica (1, 2 ou 3) ⁿ
Qual a raça utilizada?	Categórica (1, 2, 3 ou 4) ^o

^a 1=Não realiza; 2= Adubação orgânica; 3= Adubação orgânica e química; 4= Adubação química. ^b 1=1 vez por ano; 2= 2 vezes por ano; 3= 3 vezes por ano ou mais. ^c 1= Não houve; 2= Há 7 meses a 1 ano; 3= Há 5 anos ou mais. ^d Não faz/ Faz silagem de milho. ^e 1=Não faz; 2= Faz adubação orgânica; 3= Faz adubação

orgânica e química; 4= Faz adubação química. ^f 1= Não utiliza; 2= Sim; sorgo; 3= Sim; tifton e estrela africana; 4= Sim; aveia. ^g 1= Milho + Soja + Farelo de trigo; 2= Soja + Milho. ^h 1= Misturada com volumoso; 2= Sozinha em cocho separado. ⁱ 1= Sim; 2= Não. ^j 1= Não Sozinho em cocho separado; 2= Misturado com volumoso. ^k 1= Não realiza; 2= Sim; realiza. ^l 1= Sim; utiliza; 2= Não utiliza. ^m 1= Sim realiza; 2= Não realiza. ⁿ 1= Extensivo (animais soltos ao pasto); 2= Semiconfinamento; 3= Confinamento. ^o 1= Gir; 2= Girolando, 3= Jersey; 4= Holandês.

Escala de produção do SPL

Para a caracterização da escala de produção, buscou-se realizar perguntas ao produtor que caracterizassem o nível de produção utilizado (Tabela 2), através de 7 variáveis de ordem estrutural e produtiva (Tabela 2). Quadro 2. Variáveis estruturais e produtivas para caracterização dos SPL

Variáveis	Tipo
Área de Leite (ha)	Métrica
Área de Pasto (ha)	Métrica
Vacas	Métrica
Vacas em lactação	Métrica
% de vacas em lactação	Métrica
Produção/ Dia	Métrica
Média/ Dia/ Vaca	Métrica

Coleta de amostras de leite

Foram coletadas 32 amostras de leite *in natura* do tanque das propriedades analisadas. O leite foi armazenado em um frasco individual com conservante bronopol[®] e enviado para análise no Laboratório Central do Programa de Análise de Rebanhos Leiteiros do Paraná (PARLPR), da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa, para realização da determinação da contagem de células somáticas (CCS) e composição química do leite (NUL, proteína, gordura, lactose, sólidos totais).

Determinação da composição química do leite, NUL e contagem de células somáticas no leite

A determinação da composição química (gordura, lactose, proteína, sólidos totais) e NUL foram realizadas de acordo com a ISO 9622 / IDF 141 (IDF, 2012) utilizando o método infravermelho. Para análise de gordura, lactose, proteína, sólidos totais e NUL foi utilizado o equipamento Bentley FTS da Bentley Instruments[®] (Minnesota – USA). Para a determinação de CCS, utilizou-se o método de citometria de fluxo por meio do

equipamento Somacount FCM da marca Bentley Instruments® (Minnesota – USA), seguindo a ISO 13366-2 / IDF 148-2 (IDF, 2006).

Análise Estatística

Para analisar as propriedades estudadas, elas foram divididas em 3 clusters (baixo, intermediário e alto) considerando o teor de NUL do leite coletado no tanque. A análise de cluster objetiva agrupar indivíduos (objetos, pontos, elementos químicos, espécies biológicas ou unidades) em classes, de forma que aquelas que possuam características semelhantes estejam na mesma classe (Valli, 2012). Dessa forma, o presente trabalho agrupou as propriedades em grupos diferentes, buscando avaliar fatores de nutrição e manejo que podem exercer influência no teor de NUL.

Os *clusters* foram divididos de acordo com o teor de NUL, o cluster 1 obteve a menor média, o cluster 2 apresentou o maior teor médio de NUL no leite e o cluster 3 apresentou valor intermediário. Após a separação dos clusters para o teor médio de NUL do leite do tanque de cada propriedade estudada, foi realizado a análise descritiva dos clusters, comparando os produtores por meio das respostas obtidas no questionário.

A análise de dados foi realizada no SPSS Statistics 1.8 versão 20. O método vizinho mais distante foi utilizado para a definição do número de cluster, através da utilização das variáveis quantitativas. Para o critério de variância externa, utilizou-se, entre os clusters a variância interna superior a 75% e entre os SPL de cada cluster, inferior a 25% (Fávero et al., 2009). Foi realizado comparações pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis com 0,05% de significância. As variáveis qualitativas foram categorizadas, com base na literatura e, posteriormente, foram comparadas entre si por meio do teste da análise de diferença de proporções do Teste Exato de Fisher. Foi utilizado também o V de Cramer que é um coeficiente de correlação que mede a associação entre as variáveis, em escala de 0 a 1, em que 0 corresponde a ausência de associação, e quanto mais próximo de 1, mais associadas são as variáveis (Dancey & Reidy, 2013).

Submissão ao comitê de ética

Todos os procedimentos de manuseio de animais estavam de acordo com as normas éticas previamente aprovadas pelo Comitê de Ética Animal da Universidade Estadual de Maringá (protocolo - CEUA 3103111018).

Resultados e discussão

De maneira geral, observa-se que o *cluster* 1 possui dezenove (19) propriedades rurais, o *cluster* 2 possui quatro (4) propriedades e o *cluster* 3, contou com nove (9) propriedades. Para o *cluster* 1, o teor médio de NUL foi de 8,07 (mg/dL), sendo o grupo de produtores com menor NUL. O *cluster* 2 obteve média de NUL de 21,60 (mg/dL), em que se enquadraram produtores com alto teor de NUL. Para o *cluster* 3 foi observado o valor de 11,90 (mg/dL), sendo o *cluster* de teor de NUL intermediário.

Em relação a Tabela 4, constatou-se a diferença no resultado da área total da propriedade utilizada para produção de leite e pasto, no entanto, estatisticamente esses resultados não apresentam diferença significativa.

Tabela 4. Área total da propriedade utilizada para produção de leite e para pasto.

Variável	Cluster 1 (n= 19)	Cluster 2 (n= 4)	Cluster 3 (n= 9)	EPM	P-Valor
Área de Leite (ha)	11,59	2,57	8,48	12,059	0,15
Área de Pasto (ha)	6,26	2,39	5,54	8,763	0,928

n = Número de propriedades analisadas em cada cluster (Cluster 1 , 2 e 3).

ha= hectares

Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis.

Na Tabela 5 é possível identificar diferença significativa entre os clusters em relação ao número de vacas e o número de vacas em lactação.

Tabela 5. Número de vacas e produção diária de leite.

Variável	Cluster 1 (n= 19)	Cluster 2 (n= 4)	Cluster 3 (n= 9)	EPM	P-Valor
Vacas	32,895 a	12,75 b	45,444 a	28,13	0,049
Vacas em lactação	25,105 a	8,0 b	29,889 a	20,77	0,039

% de vacas em lactação	77,08	69,18	73,5	22,11	0,838
Produção/ Dia	456,579	150	542	525,03	0,119
Média/ Dia/ Vaca	13,73	11,75	17,33	7,258	0,176

n = Número de propriedades analisadas em cada cluster (Cluster 1 , 2 e 3).

Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis.

Na análise de composição do leite (Tabela 6) foi possível observar diferença significativa entre os *clusters* para os valores de NUL, gordura e sólidos totais.

Tabela 6. Composição e CCS do leite coletado do tanque.

Variável	Cluster 1 (n= 19)	Cluster 2 (n= 4)	Cluster 3 (n= 9)	EPM	P-Valor
Teor de N-ureico (mg/dL)	8,07 b	21,60 a	11,90 b	5,438	0,0001
CCS (céls./mL)	694,58	627,25	1135,98	1226,97	0,64
Gordura (g/100g)	3,01 a	1,77 b	2,87 a	0,873	0,043
Proteína (g/100g)	3,24	3,21	3,22	0,257	0,737
Lactose (g/100g)	4,38	4,21	4,38	0,332	0,367
Sólidos Totais (g/100g)	11,59 a	10,08 b	11,55 a	1,603	0,037

n = Número de propriedades analisadas em cada cluster (Cluster 1 , 2 e 3).

Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis.

Para tipo de adubação da pastagem (tabela 7) utilizada na alimentação das vacas, observou-se que os clusters 1, 2 e 3 aplicavam em sua maioria adubação orgânica (não foram usados pesticidas) nas pastagens, visto que 15/32 propriedades analisadas utilizavam adubação estritamente orgânica. O coeficiente V de Cramer adubação de pastagens foi igual a 0,223.

Tabela 7. Adubação de pastagens.

Tipo de Adubação pastagem		Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3
Não realiza adubação	Frequência observada	5 (26,3%)	0 (0,0%)	1 (11,1%)
	Frequência esperada	3,6	0,8	1,7
	Resíduo ajustado	1,3	-1,0	-0,7
Adubação orgânica	Frequência observada	8 (42,1%)	3 (75%)	4 (44,4%)

	Frequência esperada	8,9	1,9	4,2
	Resíduo ajustado	-0,7	1,2	-0,2
Adubação orgânica e química	Frequência observada	2 (10,5%)	0 (0,0%)	1 (11,1%)
	Frequência esperada	1,8	0,4	0,8
	Resíduo ajustado	0,3	-0,7	0,2
Adubação química	Frequência observada	4 (21,1%)	1 (25%)	3 (33,3%)
	Frequência esperada	4,8	1,0	2,3
	Resíduo ajustado	-0,6	0	0,7
Total		19 (100%)	4 (100%)	9 (100%)

A frequência da adubação de pastagens (Tabela 8) do cluster 1 era em sua maioria, realizado 3 vezes por ano ou mais. Já para o cluster 2 a maioria das propriedades (2/4) realizava adubação uma vez ao ano. É evidente que o nitrogênio ingerido pelo animal não é proveniente somente da pastagem, mas também de outros alimentos da dieta. O coeficiente V de Cramer para a frequência de adubação de pastagens foi igual a 0,286.

Tabela 8. Frequência de adubação das pastagens.

<i>Frequência de adubação pastagem</i>		Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3
1 x por ano	Frequência observada	3 (21,4%)	2 (50%)	3 (2,5%)
	Frequência esperada	4,3	1,2	2,5
	Resíduo ajustado	-1,1	0,9	0,5
2 x por ano	Frequência observada	1 (7,1%)	1 (25%)	0 (0%)
	Frequência esperada	1,1	0,3	0,6
	Resíduo ajustado	-0,1	1,4	-1,0
3 x por ano ou mais	Frequência observada	10 (71,4%)	1 (25,0%)	0 (0,0%)
	Frequência esperada	8,6	2,5	4,9
	Resíduo ajustado	1,1	-1,6	0,1
Total		14 (100%)	4 (100%)	8 (100%)

Evidencia-se na Tabela 9 que a maioria das propriedades não possuía cultura anterior a pastagem, indicando que não havia resíduos nitrogenados de culturas e adubação anterior. O coeficiente V de Cramer para cultura anterior na pastagem foi de 0,227.

Tabela 9. Cultura anterior na pastagem.

<i>Cultura anterior na pastagem</i>		Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3
Não	Frequência observada	7 (41,2%)	3 (75%)	5 (55,6%)
	Frequência esperada	8,5	2,0	4,5
	Resíduo ajustado	-1,1	1,1	0,4
Há 7 meses a 1 ano	Frequência observada	2 (11,8%)	0 (0,0%)	2 (22,2%)
	Frequência esperada	2,3	0,5	1,2
	Resíduo ajustado	-0,3	-0,8	0,9
Há 5 anos ou mais	Frequência observada	8 (47,1%)	1 (25%)	2 (22%)
	Frequência esperada	6,2	1,5	3,3
	Resíduo ajustado	1,4	-0,5	-1,1
Total		17 (100%)	4 (100%)	9 (100%)

Em relação ao fornecimento de silagem (Tabela 10) aos animais, a maioria dos produtores (23/32) realizava essa prática, evidenciando a sua importância, especialmente em épocas de escassez de pastagens. No *cluster 3*, observou-se que 100% das propriedades estudadas faziam o uso de silagem de milho. O coeficiente V de Cramer para o uso de silagem foi de 0,402.

Tabela 10. Uso de silagem.

<i>Faz uso silagem?</i>		Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3
Não faz	Frequência observada	7 (36,8%)	2 (50%)	0 (0%)
	Frequência esperada	5,3	1,1	2,5
	Resíduo ajustado	1,3	1,0	-2,2
Faz de milho	Frequência observada	12 (63,2%)	2 (50%)	9 (100%)
	Frequência esperada	13,7	2,9	6,5
	Resíduo ajustado	-1,3	-1,0	2,2
Total		19 (100%)	4 (100%)	9 (100%)

A utilização de grãos transgênicos (tabela 11) foi realizada por 20 das 23 propriedades que faziam silagem, esse fato se dá pelo maior número de propriedades

inseridas no sistema convencional. O coeficiente V de Cramer para o uso de grão transgênico na alimentação das vacas foi de 0,343.

Tabela 11. Uso de grão transgênico na alimentação das vacas.

<i>Utiliza grão transgênico?</i>		Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3
Sim	Frequência observada	11 (91,7%)	2 (100%)	6 (66,7%)
	Frequência esperada	9,9	1,7	7,4
	Resíduo ajustado	1,2	0,70	-1,6
Não	Frequência observada	1 (8,3%)	0 (0%)	3 (33,3%)
	Frequência esperada	2,1	0,3	1,6
	Resíduo ajustado	-1,2	-0,7	1,6
Total		12 (100%)	2 (100%)	9 (100%)

A correção de solo não foi fator importante para o aumento de NUL, pois no *cluster 2*, a maioria (3/4) dos produtores não fazia uso dessa prática. É possível evidenciar que a não correção de solo é muitas vezes pela falta de assistência técnica que dê suporte e instrua o produtor. O coeficiente V de Cramer para a realização da correção de solo foi de 0,199.

Tabela 12. Realização de correção de solo.

<i>Realiza correção de solo?</i>		Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3
Faz	Frequência observada	9 (50%)	1 (25%)	3 (33,3%)
	Frequência esperada	7,5	1,7	3,8
	Resíduo ajustado	1,1	-0,7	-0,6
Não faz	Frequência observada	9 (50%)	3 (75%)	6 (66,7%)
	Frequência esperada	10,5	2,3	5,2
	Resíduo ajustado	-1,1	-0,7	-0,6
Total		18 (100%)	4 (100%)	9 (100%)

Em todas as 32 propriedades estudadas era realizado o fornecimento de algum tipo de sal (sal comum ou sal mineral lactação) para as vacas em lactação. Foi possível

observar que 14 forneciam em cocho separado e 17 produtores disponibilizavam o sal misturado com o volumoso. O coeficiente V de Cramer para o fornecimento de sal para as vacas foi de 0,037.

Tabela 13. Fornecimento de sal para as vacas.

<i>Fornecimento de sal</i>		Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3
Sozinho em cocho separado	Frequência observada	8 (44,4%)	2 (50%)	4 (44,4%)
	Frequência esperada	8,1	1,8	4,1
	Resíduo ajustado	-0,1	0,2	-0,1
Misturado com o volumoso	Frequência observada	10 (55,6%)	2 (50%)	5 (55,6%)
	Frequência esperada	18	2,2	4,9
	Resíduo ajustado	0,1	-1,1	0,1
Total		18 (100%)	4 (100%)	9 (100%)

O uso de subprodutos na alimentação dos animais (tabela 14) também não interferiu no NUL, pois poucos produtores (10/32) faziam o uso dessa prática. O coeficiente V de Cramer para a utilização de subprodutos na alimentação das vacas foi de 0,402.

Tabela 14. Utilização de subprodutos na alimentação das vacas.

<i>Utiliza subprodutos na alimentação das vacas?</i>		Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3
Não	Frequência observada	10 (52,6%)	3 (75%)	9 (100%)
	Frequência esperada	13,1	2,8	6,2
	Resíduo ajustado	-2,4	0,3	2,4
Massa de mandioca	Frequência observada	2 (10,5%)	0 (0%)	0 (0%)
	Frequência esperada	1,2	0,3	0,6
	Resíduo ajustado	1,2	-0,6	-0,9
Cana Picada	Frequência observada	1 (5,3%)	0 (0%)	0 (0%)
	Frequência esperada	0,6	0,1	0,3
	Resíduo ajustado	0,8	-0,4	-0,6
Palha de aveia	Frequência observada	1 (5,3%)	0 (0%)	0 (0%)
	Frequência esperada	0,6	0,1	0,3
	Resíduo ajustado	0,8	-0,4	-0,6

Quirera de milho	Frequência observada	1 (5,3%)	1 (25%)	0 (0%)
	Frequência esperada	0,6	0,3	0,3
	Resíduo ajustado	0,8	1,7	-0,6
Casquinha de soja	Frequência observada	3 (15,8%)	0 (0%)	0 (0%)
	Frequência esperada	1,8	0,4	0,8
	Resíduo ajustado	1,5	-0,7	-1,1
Polpa cítrica	Frequência observada	1 (5,3%)	0 (0%)	0 (0%)
	Frequência esperada	0,6	0,1	0,3
	Resíduo ajustado	0,8	-0,4	-0,6
Total		19 (100%)	4 (100%)	9 (100%)

Em suma, grande parte dos produtores (15/28) utilizavam milho + soja + farelo de trigo no concentrado fornecido para as vacas leiteiras, e 13/28 fornecendo somente soja + milho (tabela 15). Os quatro produtores não contabilizados, não faziam o uso de concentrado na dieta das vacas. O coeficiente V de Cramer para ingredientes utilizados no concentrado fornecido as vacas foi de 0,216.

Tabela 15. Ingredientes utilizados no concentrado fornecido para vacas.

<i>Ingredientes utilizados no concentrado</i>		Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3
Milho + Soja + Farelo de trigo	Frequência observada	10 (62,5%)	1 (33,3%)	4 (44,4%)
	Frequência esperada	8,6	1,6	4,8
	Resíduo ajustado	1,1	-0,7	-0,7
Soja + Milho	Frequência observada	6 (37,5%)	2 (66,7%)	5 (55,6%)
	Frequência esperada	7,4	1,4	4,2
	Resíduo ajustado	-1,1	0,7	0,7
Total		16 (100%)	3 (100%)	9 (100%)

Somente 2/23 propriedades avaliadas que faziam silagem, não realizavam nenhum tipo de adubação na planta, todas outras propriedades utilizavam adubação orgânica, química ou ambos. O coeficiente V de Cramer para a adubação do grão utilizado para a silagem foi de 0,282.

Tabela 16. Realização de adubação do grão utilizado para silagem.

<i>Realização adubação do grão utilizado para silagem? Qual?</i>		Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3
Não realiza adubação	Frequência observada	1 (8,3%)	0 (0%)	1 (11,1%)
	Frequência esperada	1,0	0,2	0,8
	Resíduo ajustado	-0,1	-0,5	0,3
Adubação orgânica	Frequência observada	0 (0%)	0 (0%)	1 (11,1%)
	Frequência esperada	0,5	0,1	0,4
	Resíduo ajustado	-1,1	-0,3	1,3
Adubação orgânica e química	Frequência observada	5 (41,7%)	0 (0%)	3 (33,3%)
	Frequência esperada	4,2	0,7	3,1
	Resíduo ajustado	0,7	-1,1	-0,1
Adubação química	Frequência observada	6 (50%)	2 (100%)	4 (44,4%)
	Frequência esperada	6,3	1,0	4,7
	Resíduo ajustado	-0,2	1,4	-0,6
Total		12 (100%)	2 (100%)	9 (100%)

A irrigação de pasto (Tabela 17) pode ter influenciado no teor de NUL, pois 50% dos produtores inseridos no *cluster* 2, que apresentam o maior teor de NUL, realizavam essa prática, sendo necessário mais estudos para comprovar essa teoria. O coeficiente V de Cramer para irrigação de pastagens foi de 0,347.

Tabela 17. Irrigação de pastagens.

<i>Irrigação de Pasto</i>		Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3
Não	Frequência observada	15 (88,2%)	2 (50%)	7 (87,5%)
	Frequência esperada	14,1	3,3	6,6
	Resíduo ajustado	0,9	-1,9	0,4
Sim	Frequência observada	2 (11,8%)	2 (50%)	1 (12,5%)
	Frequência esperada	2,9	0,7	1,4
	Resíduo ajustado	-0,9	1,9	-0,4
Total		17 (100%)	4 (100%)	8 (100%)

As raças (Tabela 18) mais proeminentes nos *clusters* estudados (1, 2 e 3) eram Jersey e Holandês, em 29 das 32 propriedades estudadas. Evidenciando a busca dos produtores pela obtenção de animais especializados na produção de leite.

Para padrão racial do rebanho, observou-se que o gado Holandês que é uma raça europeia com aptidão leiteira era o padrão racial do rebanho de 52,6% dos SPL do *cluster* 1, 50% do SPL do *cluster* 2 e 88,9% do SPL do *cluster* 3. O coeficiente V de Cramer para padrão racial do rebanho foi igual a 0,283.

Tabela 18. Padrão racial dos rebanhos das propriedades estudadas.

<i>Raças</i>		Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3
Gir	Frequência observada	2 (10,5%)	0 (0%)	0 (0%)
	Frequência esperada	1,2	0,3	0,6
	Resíduo ajustado	1,2	-0,6	-0,9
Girolando	Frequência observada	1 (5,3%)	0 (0%)	0 (0%)
	Frequência esperada	0,6	0,1	0,3
	Resíduo ajustado	0,8	-0,4	-0,6
Jersey	Frequência observada	6 (31,6%)	2 (50%)	1 (11,1%)
	Frequência esperada	5,3	1,1	2,5
	Resíduo ajustado	0,5	1,0	-1,3
Holandês	Frequência observada	10 (52,6%)	2 (50%)	8 (88,9%)
	Frequência esperada	11,9	2,5	5,6
	Resíduo ajustado	-1,4	-0,6	1,9
Total		19 (100%)	4 (100%)	9 (100%)

Em relação a proporção das propriedades inseridas nos sistemas de produção agroecológico e convencional (Tabela 19), observou-se que o número de propriedades inseridas no sistema convencional (22) é maior do que o número de propriedades inseridas no sistema agroecológico (10). Não sendo possível inferir dessa forma que o sistema de produção tenha tido influência sobre o valor de NUL.

Tabela 19. Proporção das propriedades inseridas nos sistemas de produção agroecológico e convencional em cada cluster.

Variável	Categoria	Cluster	Cluster	Cluster	Probabilidade
		1	2	3	
Tipo de produção referente ao cluster	Convencional	40,63 (n= 13)	9,38 (n= 3)	18,75 (n= 6)	1000
	Agroecológica	18,75 (n= 6)	3,13 (n= 1)	9,38 (n= 3)	

n = Número de propriedades analisadas em cada cluster (Cluster1, 2 e 3).

Variáveis quantitativas em relação a propriedade e a produção de leite

Na Tabela 4, não foi observado semelhanças entre os produtores de cada *cluster* em relação a área (ha) utilizada para produção de leite e pasto. O *cluster 2* possui os produtores que apresentaram a maior limitação do tamanho de área tanto para produção de leite quanto para o cultivo de pastagens. É importante ressaltar que a pastagem é a fonte de nutrientes mais econômica em qualquer parte do mundo; principalmente em países em desenvolvimento como o Brasil (Silva et al., 2008).

Em relação a produção média por animal e produção total de leite, o *cluster 2* apresenta a menor produção, o *cluster 1* obteve a produção intermediária entre os outros *clusters*, e o *cluster 3* apresentou a maior produção. Considera-se a produtividade do rebanho importante fator de desempenho na produção rural, bem como a visão de competitividade sistêmica (Parré et al., 2011). De acordo com Çilek & Tekin (2005), a produtividade de animais de criação é resultado da combinação de genótipo e condições ambientais ambiental. Ainda, os fatores ambientais podem ser classificados como fatores com efeitos mensuráveis (idade, ano, estação, frequência da ordenha, etc.) e fatores com efeitos incomensuráveis (doenças infecciosas, infestações parasitárias, etc.).

É possível observar a diferença significativa entre o número de vacas na propriedade (secas+lactação) e o número de vacas em lactação entre os *clusters*. Evidentemente, isso é um fator que interfere na produtividade total da propriedade, visto que o *cluster 3* que apresenta o maior número de animais em lactação também é o que possui a maior produção diária total e por animal, evidenciando maior intensidade na produção dos produtores nesse *cluster*.

Qualidade e composição de leite

Na tabela 6, observou-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre os *clusters* para o teor de NUL, gordura leite e sólidos totais.

De acordo com Osorio et al. (2016), a gordura do leite de vaca pode variar de 3 a 5%. Visto isso, para resultados apresentados na tabela 6, pode-se observar que somente o *cluster* 1 apresenta teor de gordura acima de 3%. Em um estudo realizado por Noro et al. (2006), em que foram avaliadas 165.311 amostras de leite o teor médio de gordura encontrado foi de 3,54%, estando acima dos valores observados neste estudo.

A concentração de gordura presente no leite pode ser afetada pela dieta (Pitta et al., 2018; Schingoethe et al., 2017; Noro et al., 2006), estágio da lactação, presença de mastite, fermentação ruminal (Pereira, 2014), idade, raça e balanço energético (Haug et al., 2007).

Em um trabalho realizado por Arora et al. (2013), foram analisadas 20 amostras de leite *in natura* de vaca e observou-se o valor de 3,3 g/100 g para proteína. O cluster 1 apresentou o valor de 3,24 g/100g, o cluster 2 apresentou o valor de 3,21 g/100g e o cluster 3 o valor de 3,22 g/100g de proteína no leite, evidenciando a similaridade entre resultados obtidos para proteína e um padrão de valores independente do cluster. A proteína do leite possui alto valor biológico, e é considerada importante fonte de proteína na dieta humana (Haug et al., 2007) fornecendo aproximadamente 3,2 g/100g de leite (Pereira, 2014).

Para lactose os clusters também obtiveram valores semelhantes (4,38; 4,2; 4,38, respectivamente). A lactose é o principal carboidrato presente no leite, é um dissacarídeo composto por glicose e galactose (Pereira, 2014), e está relacionada a vários fatores biológicos e fisiológicos, como a saúde do úbere e pelo balanço energético e metabolismo do animal (Costa et al., 2019). A principal função da lactose é a osmorregulação, sendo responsável por aproximadamente 50% da pressão osmótica do leite, e ocorre uma fixação de 9 litros de água sempre que 5 gramas de lactose são sintetizadas pela glândula mamária (Menéndez González et al., 2010; Lin et al., 2016).

A mensuração de NUL é utilizada para prever o nitrogênio excretado por meio do leite para o meio ambiente (Correa-Luna et al., 2019), visto que, a excreção de N é grande preocupação pelo seu impacto no ecossistema (Apelo et al., 2014). Assim, a

ingestão de proteína deve atender as exigências das vacas evitando perdas de N (Hof et al., 1997).

A ureia é um constituinte normal do leite e faz parte da fração de nitrogênio não proteico do leite (Bucholtz & Johnson, 2007). Há muito tempo, sabe-se que o aumento de NUL pode ser reflexo da utilização ineficiente da proteína bruta da dieta dos ruminantes (Broderick et al., 1997; Stoop et al., 2007). Contudo, a amostra do tanque a granel representa o leite de todas as vacas ordenhadas do rebanho, e isso não permite o monitoramento individual das vacas que podem ser alimentados com diferentes rações e concentrações de níveis de proteína (Bucholtz & Johnson, 2007). É possível que o NUL também seja influenciado pelo manejo do rebanho, paridade, dias em lactação, estação do ano, raça, seleção genética, fatores metabólicos de cada animal e ambientais (Bucholtz & Johnson, 2007; Stoop et al., 2007; Doska et al., 2012).

Observou-se que nos clusters 1, 2 e 3 aplicava em sua maioria adubação orgânica nas pastagens (Tabela 7). A correta adubação e correção do solo, bem como o manejo adequado da pastagem, são imprescindíveis, pois objetivam intensificar a produtividade da forragem e sua qualidade nutricional (Castro et al., 2016).

Os *clusters* com menor teor de NUL foram aqueles em que a maioria dos produtores faziam o uso de silagem de milho na dieta dos animais. O tipo de adubação dos grãos utilizados para a confecção da silagem não foi fator influente para o valor de NUL, pois a maioria dos produtores (20/32) independente do *cluster* ao qual pertenciam; realizavam adubação química na silagem de milho.

O CCS é um preditor útil de infecção intramamária e, portanto, importante componente do leite na avaliação de aspectos de qualidade, controle de higiene e mastite (Sharma et al., 2011; Bradley & Green, 2005; Li et al., 2014). De acordo Bradley & Green (2005), valores de CCS de <100.000 células/mL é geralmente considerado "normal", refletindo uma glândula mamária saudável, enquanto um CEC de > 200.000 células / mL é sugestivo de infecção bacteriana. Os valores obtidos de CCS para os grupos avaliados apresentam valores maiores do que 200.000 CCS/mL, sugerindo a presença de infecção na glândula mamária.

Elevados valores de CCS influencia negativamente a qualidade do leite cru, visto que a mastite subclínica está relacionada com a baixa produção de leite, alterações na consistência (densidade) do leite, possibilidade reduzida de processamento adequado,

baixa proteína e alto risco para a higiene do leite, pois pode até conter organismos patogênicos (Sharma et al., 2011). Além da infecção intramamária, existem outros fatores que influenciam a contagem de células somáticas do leite, como estágio de lactação, frequência de ordenha, idade, raça, paridade e estação do ano (Malik et al., 2018).

Vários métodos são importantes para evitar o aumento de CCS, como pré-dipping e pós-dipping, o uso de luvas pelos ordenhadores, controle de vacas com mastite (vaca com mastite última a ser ordenhada), inspeção diária no úbere de vacas secas visando a detecção de mastite, uso do California mastitis test (CMT), dentre outros (Olechnowicz & Jaśkowski, 2012). É importante ressaltar, que em nenhuma propriedade visitada o ordenhador fazia o uso de luvas durante a ordenha.

Variáveis nutricionais, manejo de pastagens e silagem

De acordo com Castro et al. (2016), a utilização de resíduos orgânicos pode ser uma forma de reduzir os custos com adubação, além de criar um descarte apropriado para os mesmos. O potencial de utilização do material orgânico como adubo para as plantações é atribuído a sua composição química e sua relação carbono:nitrogênio (Araujo et al., 2011).

Sabe-se que o resíduo orgânico sólido de dejetos de animais pode se tornar alternativa para o aumento da produtividade e qualidade das forrageiras, visto sua habilidade de manter os níveis de fertilidade, com menor custo, aumentar a produtividade, melhorar as propriedades químicas e físicas do solo, diminuir a poluição e aumentar a eficiência de uso e qualidade nutricional nos sistemas de produção (Araujo et al., 2011). Apesar da maior parte da demanda agrícola mundial de N ser atendida pelo uso de fertilizantes nitrogenados, sabe-se que as leguminosas também são utilizadas como fontes de N (Wezel & Peeters, 2014; Amado et al., 2000), especialmente nos sistemas agroecológicos. Portanto, em sistemas que usam as leguminosas como fonte de N, normalmente só complementam via fertilizante o déficit mineral.

Outro fator que pode influenciar o teor de N nas pastagens é a estação do ano. De acordo com um trabalho realizado por Gerdes et al. (2000) foi observado que os teores de proteína em pastagens (*Brachiaria brizantha* Stapf. cv. Marandu; *Setaria sphacelata* [Schum.] Moss var. *sericea* [Stapf.] cv. Kazungula e *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia-1) foi observado no outono, independentemente da espécie forrageira.

A suplementação proteica foi raramente utilizada pelos produtores entrevistados, visto que 26 (81,25%) dos 32 produtores não forneciam nenhum tipo de suplementação proteica para as vacas em lactação. Não sendo esse então, um fator importante para o teor de NUL das propriedades analisadas.

A maior parte dos produtores (22/32) fazia uso do sistema extensivo para criação das vacas, visto o menor custo benefício desse sistema, especialmente quando se tratando de produtores de pequena e média produção, como os que constavam neste estudo.

Efeito de Raça

Os efeitos da raça nas concentrações de NUL são variáveis e necessitam ser considerados quando realizado a avaliação da NUL (Bucholtz & Johnson, 2007). Sendo as raças mais presentes nos grupos estudados, holandês, jersey, gir e girolando, respectivamente. O gado holandês era o padrão racial mais presente no *cluster* 1 (10/19) que apresentou menor valor para NUL (Tabela 18), assim como o *cluster* 3 (8/9). No *cluster* 2, 50% dos produtores tinham o rebanho leiteiro composto de vacas da raça holandês e os outros 50% composto de animais da raça Jersey.

Efeito do sistema de produção no teor de NUL

Foi possível observar que 70,96% das propriedades avaliadas faziam parte do sistema de produção convencional e somente 31,25% das propriedades faziam parte do sistema de produção agroecológico. Dessa forma, não é possível afirmar que o sistema de produção influenciou o teor de NUL.

Foi observado por Meyer et al., (2006) ao analisar o leite de 7.006 vacas da raça Holandês o teor médio de NUL de 13,3 mg/dL, valor esse similar ao encontrado no *cluster* 3, que se refere ao *cluster* que obteve o valor médio de NUL entre os três *clusters* estudados. Doska et al. (2012) também encontrou valores similares ao *cluster* 2, ao avaliar amostras de leite de 16.013 animais por 127.428 dias em que se obteve a média de 14,45 mg/dL.

Entretanto, o *cluster* 2 apresenta valor médio (21,60 mg/dL) acima do encontrado por Meyer et al. (2006) e Doska et al. (2012), esse aumento pode ser por fatores nutricionais como o elevado teor de proteína na dieta do animal ou baixa eficiência na

utilização da mesma (Zhai et al., 2006), falta de sincronia de teor de proteína bruta da dieta com o fornecimento de carboidrato (Caldas Neto et al., 2008), mas também por outros fatores não nutricionais, como a paridade e a estação do ano (Fatehi et al., 2012).

O menor valor de NUL como o encontrado no cluster 1 (8,07 mg/dL), pode ser atribuído a concentração menor de proteína na dieta e a genética animal (Beatson et al., 2019).

Conclusão:

Não foi encontrada associação positiva entre NUL e o tipo de sistema de produção. Foi observado diferença significativa ($p < 0,05$) entre os clusters, para o número total de vacas, e o número de vacas em lactação nas propriedades avaliadas. Em relação a qualidade do leite analisado foi encontrado diferença significativa ($p < 0,05$) para NUL, gordura e sólidos totais. Visto que o fator nutricional é de grande influência para o teor de NUL, e as propriedades avaliadas proporcionavam aos animais alimentação com basicamente as mesmas matérias-primas (milho e soja) não é possível afirmar qual fator influenciou o teor de NUL para os grupos estudados.

Agradecimentos: Os autores gostariam de reconhecer o apoio do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá; Núcleo Pluridisciplinar de Pesquisa e Estudo de Cadeia Produtiva de Leite (NUPEL); Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para a Cadeia Produtiva do Leite (INCT-LEITE); Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa; Fundação Araucária e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Referências Bibliográficas

- Amado, T. J. C., Mielniczuk J., & Fernandes, S. B. V. (2000). Leguminosas e adubação mineral como fontes de nitrogênio para o milho em sistemas de preparo do solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 24(1), 179-189. doi: 10.1590/S0100-06832000000100020
- Apelo, S. A., Knapp, J. R., & Hanigan, M. D. (2014). Invited review: Current representation and future trends of predicting amino acid utilization in the lactating dairy cow. *Journal of Dairy Science*, 97(7), 4000-4017. doi: 10.3168/jds.2013-7392
- Arora, R., Bhojak, N., & Joshi, R. (2013). Comparative aspects of goat and cow milk. *Int. J. Eng. Sci. Invent*, 2(1), 7-10.
- Beatson, P. R., Meier, S., Cullen, N. G., & Eding, H. (2019). Genetic variation in milk urea nitrogen concentration of dairy cattle and its implications for reducing urinary nitrogen excretion. *Animal*, 13(10), 2164-2171. doi: 10.1017/S1751731119000235
- Bradley, A., & Green, M. (2005). Use and interpretation of somatic cell count data in dairy cows. *In practice*, 27(6), 310-315. doi: 10.1136/inpract.27.6.310
- Broderick, G. A., & Clayton, M. K. (1997). A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. *Journal of Dairy Science*, 80(11), 2964-2971. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(97)76262-3
- Brun-Lafleur, L., Delaby, L., Husson, F. & Faverdin, P. (2010). Predicting energy× protein interaction on milk yield and milk composition in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 93(9), 4128-4143. doi: 10.3168/jds.2009-2669
- Bucholtz H & Johnson T (2007) Use of milk urea nitrogen in herd management. In: *Tri-State Dairy Nutrition Conference, 24-25 April 2007* (pp. 63-67).
- Caldas Neto, S.F.; Zeoula, L.M., Prado, I.N.; Branco, A.F.; Kazama, R.; Geron, L.J.V. Maeda, E.M.; Fereli, F. (2008). Proteína degradável no rúmen na dieta de bovinos: digestibilidades total e parcial dos nutrientes e parâmetros ruminais. *Rev. Brasil. Zootec.*, 37(6), 1094-1102.
- Casali, M., Mendonça, B. S., Brito, M. M., Santos, M. G. R, Lima, P. G. L., Silva, S. T. T., Damasceno J. C., & Bánkuti, F. I. (2020). Information asymmetry among dairy

- producers in Paraná, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*, 41(1), 293-304. doi: 10.5433/1679-0359.2020v41n1p295
- Cederberg, C., & Mattsson, B. (2000). Life cycle assessment of milk production—a comparison of conventional and organic farming. *Journal of cleaner production*, 8(1), 49-60. doi: 10.1016/S0959-6526(99)00311-X
- Çilek, S., & Tekin, M. E. (2005). Environmental factors affecting milk yield and fertility traits of Simmental cows raised at the Kazova State Farm and phenotypic correlations between these traits. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29(4), 987-993.
- Correa-Luna, M., Donaghy, D. J., Kemp, P. D., Schutz, M. M., & López-Villalobos, N. (2019). Effect of genetic merit for milk urea on milk production and efficiency of crude protein utilization of grazing cows with contrasting supplement inclusion. *New Zealand Journal of Animal Science and Production*, 79, 112-117.
- Costa, A., Lopez-Villalobos, N., Sneddon, N. W., Shalloo, L., Franzoi, M., De Marchi, M., & Penasa, M. (2019). Invited review: Milk lactose—Current status and future challenges in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 102(7), 5883-5898. doi: 10.3168/jds.2018-15955
- Dancey, C. P., & Reidy, J. (2013). *Estatística sem matemática para Psicologia*, 5th ed. Penso, Porto Alegre.
- Doska, M. C., Silva, D. F. F. D., Horst, J. A., Valloto, A. A., Rossi Junior, P., & Almeida, R. D. (2012). Sources of variation in milk urea nitrogen in Paraná dairy cows. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41(3), 692-697. doi: 10.1590/S1516-35982012000300032
- Fatehi, F., Zali, A., Honarvar, M., Dehghan-Banadaky, M., Young, A. J., Ghiasvand, M., & Eftekhari, M. (2012). Review of the relationship between milk urea nitrogen and days in milk, parity, and monthly temperature mean in Iranian Holstein cows. *Journal of dairy science*, 95(9), 5156-5163. doi: 10.3168/jds.2011-4349
- Fávero, L. P. L., Belfiore, P. P., Silva, F. L. D., & Chan, B. L. (2009). *Análise de dados: modelagem multivariada para tomada de decisões*. Rio de Janeiro: Elsevier.
- Gerdes, L., Werner, J. C., Colozza, M. T., Possenti, R. A., & Schammas, E. A. (2000). Avaliação de características de valor nutritivo das gramíneas forrageiras Marandu, Setária

e Tanzânia nas estações do ano. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 29, 955-63. doi: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982000000400003>

Grande, P. A., Santos, G. T. D., Ribeiro, H., Damasceno, J. C., Alcalde, C. R., Barbosa, O. R., Horst, J. A., & Santos, F. S. D. (2009). Monitoring the nutritional and reproductive state of dairy cows through the presence of urea in milk. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 52, 249-258. doi: 10.1590/S1516-89132009000700032

Guliński, P., Salamończyk, E., & Młynek, K. (2016). Improving nitrogen use efficiency of dairy cows in relation to urea in milk—a review. *Animal Science Papers and Reports*, 34(1), 24.

Gurgel, I. A., & Nunes, E. M. (2019). A dinâmica socioeconômica da pecuária do Rio Grande do Norte: análise da cadeia produtiva do leite do território da cidadania sertão do Apodi. *Revista Econômica do Nordeste*, 50(2), 59-76.

Haug, A., Høstmark, A. T., & Harstad, O. M. (2007). Bovine milk in human nutrition—a review. *Lipids in health and disease*, 6(1), 25. doi: 10.1186/1476-511X-6-25

Hof, G., Vervoorn, M. D., Lenaers, P. J., & Tamminga, S. (1997). Milk urea nitrogen as a tool to monitor the protein nutrition of dairy cows. *Journal of dairy science*, 80(12), 3333-3340. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(97)76309-4

International Dairy Federation (IDF). (2006). Milk—Enumeration of somatic cells. Part 2: Guidance on the operation of fluoro-opto-electronic counters. ISO 13366-2/IDF 148. Brussels, Belgium: International Dairy Federation.

International Dairy Federation (IDF). (2012). Milk and liquid milk products—Guidelines for the application of mid-infrared spectrometry. IDF norm 141. ISO/DIS 9622:2012. Brussels, Belgium.

Jonker, J. S., & Kohn, R. A. (2001). Using milk urea nitrogen to evaluate diet formulation and environmental impact on dairy farms. *The Scientific World Journal*, 1, 852-859. doi: 10.1100/tsw.2001.265

Lin, Y., X. Sun, X. Hou, B. Qu, X. Gao, and Q. Li. 2016. Effects of glucose on lactose synthesis in mammary epithelial cells from dairy cow. *BMC Vet. Res.* 12:1–11. doi:10.1186/s12917-016-0704-x.

- Li, N., Richoux, R., Boutinaud, M., Martin, P., & Gagnaire, V. (2014). Role of somatic cells on dairy processes and products: a review. *Dairy science & technology*, 94(6), 517-538. doi: 10.1007/s13594-015-0221-x.
- Malik, T. A., Mohini, M., Mir, S. H., Ganaie, B. A., Singh, D., Varun, T. K., Howal, S., & Thakur, S. (2018). Somatic cells in relation to udder health and milk quality-a review. *Journal of Animal Health and Production*, 6(1). doi: 10.17582/journal.jahp/2018/6.1.18.26
- Menéndez González, S., A. Steiner, B. Gassner, and G. Regula. 2010. Antimicrobial use in Swiss dairy farms: Quantification and evaluation of data quality. *Prev. Vet. Med.* 95:50–63. doi:10.1016/j.prevetmed.2010.03.004.
- Meyer, P. M., Machado, P. F., Coldebella, A., Cassoli, L. D., Coelho, K. O., & Rodrigues, P. H. M. (2006). Fatores não-nutricionais e concentração de nitrogênio uréico no leite de vacas da raça Holandesa. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35(3), 1114-1121. doi: 10.1590/S1516-35982006000400024
- Noro, G., González, F. H. D., Campos, R., & Dürr, J. W. (2006). Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35(3), 1129-1135. doi: 10.1590/S1516-35982006000400026
- Olechnowicz, J., & Jaśkowski, J. M. (2011). Somatic cells count in cow's bulk tank milk. *Journal of Veterinary Medical Science*, 74(6), 681–686. doi: 10.1292/jvms.11-0506
- Osorio, J. S., Lohakare, J., & Bionaz, M. (2016). Biosynthesis of milk fat, protein, and lactose: roles of transcriptional and posttranscriptional regulation. *Physiological genomics*, 48(4), 231-256. doi: 10.1152/physiolgenomics.00016.2015
- Parré, J. L., Bánkuti, S. M. S., & Zanmaria, N. A. (2011). Perfil socioeconômico de produtores de leite da região Sudoeste do Paraná: um estudo a partir de diferentes níveis de produtividade. *Revista de Economia e Agronegócio*, 9(2), 275-300.
- Pereira, P. C. (2014). Milk nutritional composition and its role in human health. *Nutrition*, 30(6), 619-627. doi: 10.1016/j.nut.2013.10.011
- Pitta, D. W., Indugu, N., Vecchiarelli, B., Rico, D. E., & Harvatine, K. J. (2018). Alterations in ruminal bacterial populations at induction and recovery from diet-induced

milk fat depression in dairy cows. *Journal of dairy science*, 101(1), 295-309. doi: 10.3168/jds.2016-12514

Rajala-Schultz P. J. & Saville W. J. A. (2003). Sources of variation in milk urea nitrogen in Ohio dairy herds. *Journal of dairy Science*, 86(5), 1653-1661. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(03)73751-5

Schingoethe, D. J. (2017). A 100-Year Review: Total mixed ration feeding of dairy cows. *Journal of dairy science*, 100(12), 10143-10150. doi: 10.3168/jds.2017-12967

Sharma, N., Singh, N. K., & Bhadwal, M. S. (2011). Relationship of somatic cell count and mastitis: An overview. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 24(3), 429-438. doi: 10.5713/ajas.2011.10233

Silva, H. A. D., Koehler, H. S., Moraes, A. D., Guimarães, V. D. A., Hack, E., & Carvalho, P. C. D. F. (2008). Análise da viabilidade econômica da produção de leite a pasto e com suplementos na região dos Campos Gerais-Paraná. *Ciência Rural*, 38(2), 445-450. doi: 10.1590/S0103-84782008000200024

Silva, J. E. C. D., Santos, A. C. D., Silva Neto, S. P. D., Dim, V. P., & Alexandrino, E. (2011). Substituição de nitrogênio por esterco bovino na produtividade de forragem e qualidade do solo. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 12(4), 852-866.

Silva C. C., Lobo, U. G. M., Rodrigues, L. M., Backes, C., & Santos, A. J. M. (2016). Eficiência de utilização de adubação orgânica em forrageiras tropicais. *Journal of Neotropical Agriculture*, 3(4), 48-54.

Sinclair, T. R., & Wit, C. T. (1975). Photosynthate and nitrogen requirements for seed production by various crops. *Science*, 189(4202), 565-567. doi: 10.1126/science.189.4202.565

Spek, J. W., Dijkstra, J., Van Duinkerken, G., & Bannink, A. (2013) A review of factors influencing milk urea concentration and its relationship with urinary urea excretion in lactating dairy cattle. *The Journal of Agricultural Science*, 151(3), 407-423. doi: 10.1017/S0021859612000561

Stoop, W. M., Bovenhuis, H., & Van Arendonk, J. A. M. (2007). Genetic parameters for milk urea nitrogen in relation to milk production traits. *Journal of dairy Science*, 90(4), 1981-1986. doi: 10.3168/jds.2006-434

Valli, M. Análise de Cluster. *Augusto Guzzo Revista Acadêmica*, 4, 77-87. doi: <https://doi.org/10.22287/ag.v0i4.107>

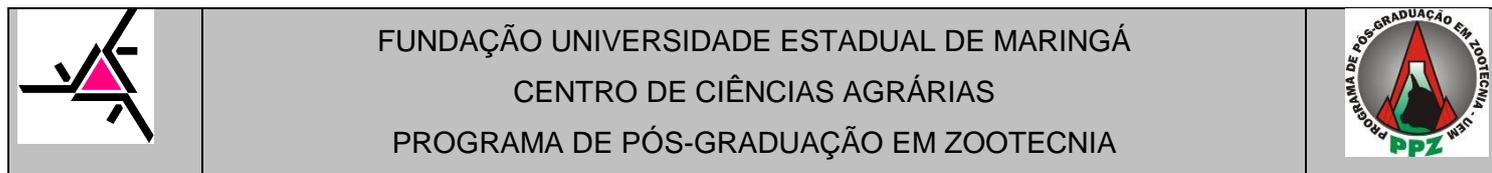
Vedana, R., & Moraes, M. L. (2018). Agricultura familiar na região sudoeste do Paraná: caracterização a partir dos dados do censo agropecuário de 2006. *Brazilian Journal of Development*, 4(5), 2408-2432.

Wezel, A., & Peeters, A. (2014). Agroecology and herbivore farming systems—principles and practices. *Options Méditerranéennes*, 109, 753-768.

Winck, C. A., & Thaler Neto, A. (2012). Perfil de propriedades leiteiras de Santa Catarina em relação à Instrução Normativa 51. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 13(2), 296-305. doi: 10.1590/S1519-99402012000200001

Zhai, S. W., Liu, J. X., Wu, Y. M., Ye, J. A., & Xu, Y. N. (2006). Responses of milk urea nitrogen content to dietary crude protein level and degradability in lactating Holstein dairy cows. *Czech Journal of Animal Science*, 51(12), 518.

Caldas Neto, S.F.; Zeoula, L.M., Prado, I.N.; Branco, A.F.; Kazama, R.; Geron, L.J.V. Maeda, E.M.; Fereli, F. (2008). Proteína degradável no rúmen na dieta de bovinos: digestibilidades total e parcial dos nutrientes e parâmetros ruminais. *Rev. Brasil. Zootec.*, 37(6), 1094-1102.

VI. Apêndice

Nome do produtor/ Proprietário: _____
 Município: _____ Data: ____/____/____
 Idade do produtor: ____ anos
 Telefone/Email: _____ Coordenadas: _____

Questionário prévio para caracterização das Propriedades LeiteirasVariáveis Produtivas e Sócio Econômicas

1- Quantos anos de estudo formal o senhor concluiu?
 1() Sem formação 2() Ensino Fundamental incompleto 3() Ensino Fundamental completo
 4() Ensino Médio incompleto 5() Ensino Médio completo 6() Ensino Superior
 incompleto 7() Ensino Superior completo

2- Onde o proprietário reside? 1() Propriedade 2() Cidade

3- Quanto tempo de atividade leiteira? _____ anos

4- Por que exerce a atividade leiteira? 1() Propriedade pequena 2() Renda mensal 3()
 Herança 4() Propriedade pequena e renda mensal 5() Outras
 descrever _____

5- Área total propriedade: _____ hectares

6- Área utilizada para produzir leite: _____ hectares

7- Área total utilizada para outras atividades: _____ hectares
 Exemplo: Área utilizada em agricultura: _____ hectares;

8- De toda a renda da propriedade; qual a porcentagem da renda do leite? _____ %

9- Além do leite; tem outras fontes de renda na propriedade?
 1() Não tem 2() Corte 3() Avicultura 4() Agricultura
 5() Horticultura 6() Suinocultura 7() Outros _____

10- Há quanto tempo está inserido na atividade agroecológica?
 1() Não estou 1() Há 6 meses 2() Há um ano
 3() Há dois anos 4() Há três anos 5() Há mais tempo; quanto: ____ anos

Variáveis do solo e culturas

11- Textura do solo: 1() arenosa 2() mista 3() argilosa

12- Faz adubação das pastagens?
 1() Não faz 2() Faz
 3() Adubação Orgânica; exemplifique; (exemplo: Cama de frango) _____

4() Adubação Química; exemplifique: _____

13- Com qual frequência anual realiza-se a adubação?

1() 1x 2() 2x 3() 3x 4() 4x

5() Mais vezes; quantas? _____

14- Faz correção de solo?

1() Faz. O que utiliza para a correção do solo? _____ 2() Não faz

15- Recentemente; foi plantado algum tipo de cultura onde está inserida a pastagem atualmente?

1() Sim; há 6 meses 2() Sim; há um ano 3() Sim; há dois anos

4() Sim; há três anos 5() Sim; há mais tempo; quanto: _____

16- Área total pastagem: _____ hectares

17- Qual o tipo de pastejo utilizado na propriedade?

1() Pasto convencional (contínuo) 2() Pastagem convencional e rotacionada

3() Piquetes rotacionados 4() Piquetes rotacionados e irrigado

5() Pastejo racional voisin 6() Silvipastoril

19- Faz Irrigação pastagens?

1() Não 2() Sim 3() Uma vez na semana

4() Duas vezes por semana 5() Três vezes por semana

6() Uma vez por dia 7() Duas vezes por dia

8() Outro _____

20- Faz silagem para o inverno? Que tipo de silagem?

1() Não faz 2() Napier 3() Cana 4() Sorgo 5() Milho 6() Milho e Napier

7() Aveia 8() outros; qual? _____

21- Quanto ao plantio de volumoso para ensilagem; qual área total cultivada?

_____ hectares

22- O milho ou sorgo utilizados na ensilagem são transgênicos?

1() Sim 2() Não

23- É realizado adubação química ou orgânica na planta utilizada para silagem?

1() Sim; química; qual? _____ com qual frequência? _____

2() Sim; orgânica; qual? _____ com qual frequência? _____

3() Não

24- Quais culturas cultivadas nas propriedades circunvizinhas?

Variáveis ordenha

25- Qual o tipo de ordenha na propriedade?

1() Manual com bezerro ao pé 2() Mecânica; balde ao pé e bezerro ao pé

3() Mecânica com balde ao pé 4() Mecanizada com transferidor

5() Mecanizada canalizada

26- Quantas ordenhas faz ao dia?

_____ ao dia

27- Qual o tipo de resfriador que utiliza?

1() Imersão 2() Granel comunitário 3() Granel

28- Frequência de limpeza do resfriador: _____ vezes por semana

29- O resfriador possui sistema automático de lavagem?

1() Não 2() Sim

30- Usa produtos de limpeza na ordenhadeira?

1() Não Usa 2() Só água fria 3() Só Água Quente

4() Detergente Alcalino 5() Detergente Neutro 6() Detergente ácido

31- Os tetos são lavados antes da ordenha?

1() Não 2() Sim

32- Com o que os tetos são secos antes da ordenha?

1() Pano coletivo 2() Pano individual 3() Pano descartável 5() Papel toalha

33- Os tetos são desinfetados ANTES da ordenha (pré-dipping)?

1() Não 2() Sim

34- Como é aplicado o agente desinfetante nos tetos ANTES da ordenha?

1() toalha com desinfetante 2() aplicador pré-dipping 3() Borrifador

35- Qual o agente desinfetante utilizado nos tetos ANTES da ordenha (pré-dipping)?

1() iodo 2() cloro 3() outro _____

36- Os tetos são desinfetados APÓS a ordenha (pós-dipping)?

1() não 2() sim

37- Qual agente desinfetante utilizado nos tetos APÓS a ordenha?

38- Como é aplicado o agente desinfetante nos tetos APÓS a ordenha?

1() Toalha com desinfetante 2() Aplicador pré-dipping 3() Borrifador

39- Realiza Testes de Mastite?

1() Não realiza 2() Caneca de Fundo Preto

3() CMT ou raquete; a cada quanto tempo? _____ dias.

40- Qual o total de vacas leiteiras do rebanho? _____ vacas

41- Quantas vacas estão em lactação; produzindo leite? _____ vacas

42- % vacas lactação _____ % vacas

43- Qual a produção total litros leite ao dia? _____ litros/dia (média de litros ao dia)

44- Qual a média de produção das vacas/dia? _____ litros/dia

45- Quantos litros de leite é deixado na propriedade para alimentação das pessoas e bezerros? _____ litros/dia (média de litros ao dia)

46- Para quem entrega; fornece o leite produzido?

1() Cooperativa 2() Laticínio 3() Associação de produtores

4() Vende para terceiros 5() Associação e cooperativa

6() Outro_____

47- Qual o preço médio recebido por litro de leite entregue ao longo de doze meses?
R\$_____

Variáveis Rebanho

48- Qual o padrão genético; a raça do seu rebanho?

1() Sem uma Raça Definida 2() Mestiças(girolanda/holandesa) 3() Padrão racial ou seja tem raça mas não tem registro 4() Puras/ registradas

49- Qual a Raça que predomina em seu rebanho?

1() Sem Raça Definida 2() Girolanda 3() Holandês
4() Jersey 5() Gir 6() Holandês e Jersey 7() Holandês e Gir
6() Outras

50- Qual o sistema de produção utilizado?

1() Pastejo 2() Semiconfinado 3() Confinado

Reforma e renovação de rebanho

51- Quando precisa introduzir novos animais no rebanho; para aumentar a produção ou substituir alguma vaca que descartou; qual a origem desses animais?

1() Compra de novilhas levando em conta o valor delas
2() Produção própria de novilhas
3() Compra de novilhas levando em conta a genética
4() Compra e produz novilhas

52- No caso de produzir os próprios animais para repor os descartes. Como você seleciona as novilhas?

1() Não produz novilhas 2() Não seleciona; usa todas as novilhas
3() Escolhe de acordo com o pai
4() Escolhe de acordo com a mãe
5() Escolhe de acordo com o pai e a mãe

53- Qual a principal causa em que você precisa descartar uma vaca BOA de leite. Por que você tem que descartar essa vaca?

1() Problema reprodutivo 2() Mastite; teto perdido 3() Reprodutivo e mastite
4() Idade (velha) 5() Venda 6() Outros_____

54- Quando você tem animais para venda; qual é a categoria de animal que vende?

1() Não vende animais 2() Desmama cruzada M e F
3() Machos de leite 4() Novilhas ponto de cobertura
5() Novilhas prenhas 6() Vacas 1ª CRIA de baixa produção
7() Vacas mais velhas acima de 5 crias 8() Outros_____

Variáveis Nutrição

55- Quais pastagens temporárias são utilizadas?

1() Milheto 2() Sorgo 3() Cana 4() Leucena 5() Aveia
7() Tifton 8() Outra _____

56- Qual a fonte de água dos animais?

1() Lagoa 2() Rio 3() Poço

57- Como a água é fornecida aos animais?

1() Poça d'água 1() Bebedouro no pasto 3() Bebedouro na cocheira

58- A ração concentrada é

1() Ração comercial pronta 2() Produzida na propriedade

Nome e descrição: _____

59- Quais os alimentos ou ingredientes contidos na ração concentrada:

1() Sorgo 2() Quirera de milho 3() Soja em grão 4() Milho moído

5() caroço de algodão 6() Farelo de trigo 7() Farelo de soja

8() Outros: _____

60- De que maneira a ração concentrada é fornecida aos animais?

1() Sozinha; em cocho separado 2() Misturada com a silagem

3() Outro: _____

61- Recebe suplementação proteica?

62- Quais alimentos estão sendo oferecidos às vacas em lactação atualmente?

1() rama de mandioca 2() mandioca picada 3() cana picada 4() rolão de milho

5() bagaço de laranja 6() sorgo picado 7() quirera de milho 8() canola

9() feno 10() aveia 11() casquinha de soja 12() resíduo de cervejaria 13() ração

concentrada 14() pasto 15() capineira 16() silagem de milho

17() Outros _____

63- É fornecido sal para os animais?

1() Não fornece 2() Sal Branco 3() Sal mineral

Qual o nome e marca do sal? _____

64- Como é ofertado o sal?

1() Misturado no concentrado 2() misturado no cocho com a silagem (ou cana) e o concentrado 3() separado; no cocho

Qual a quantidade de sal fornecida? ____ kg

65- Qual a alimentação dos bezerros (M e F) até a desmama?

1() Pasto + leite do teto 2() Teto + verde no cocho

3() Teto + verde no cocho e ração/concentrado

4() Leite balde; concentrado e verde 5() Leite concentrado e feno

66- Qual a alimentação fornecida às fêmeas da desmama até novilhas?

1() Pasto 2() Pasto+ concentrado 3() Pasto;verde no cocho e concentrado 4() Pasto + silagem + concentrado

Especificar o pasto; silagem e concentrado _____

67- Qual a alimentação fornecida para as novilhas até o ponto de cobertura?

1() Pasto 2() Pasto+ concentrado 3() Pasto ;verde no cocho e concentrado

4() Pasto + silagem + concentrado

Especificar o pasto; silagem e concentrado _____

68- Qual a alimentação fornecida às novilhas prenhes até o pré- parto?

1() Pasto 2() Pasto+ concentrado
 3() Pasto;verde no cocho e concentrado 4() Pasto + silagem + concentrado
 Especificar o pasto; silagem e concentrado _____

69- Qual a alimentação fornecida às novilhas prenhes até 60 dias antes do parto (pré-parto)?
 1() Pasto 2() Pasto+ concentrado 3() Pasto;verde no cocho e concentrado
 4() Pasto + silagem + concentrado
 Especificar o pasto; silagem e concentrado _____

70-Qual o tipo de concentrado que você oferece para as novilhas no pré-parto?
 1() Não oferece 2() Mesmo concentrado dado para as vacas em lactação
 3() Concentrado específico para o pré-parto

71-Qual a alimentação fornecida para as vacas em lactação no verão; época das chuvas?
 1() Pasto 2() Pasto+ concentra 3() Pasto ;verde no cocho e concentrado
 4() Pasto + silagem + concentrado
 Especificar o pasto; silagem e concentrado _____

72- Qual a alimentação fornecida para as vacas em lactação no inverno; época da seca?
 1() Pasto 2() Pasto+ concentrado 3() Pasto ;verde no cocho e concentrado
 4() Pasto + silagem + concentrado
 Especificar o pasto; silagem e concentrado _____

73-Quanto ao fornecimento de ração concentrada para vacas em lactação como é fornecida; qual o critério?
 1() Não fornece 2() Mesma quantidade para todas as vacas independente da produção
 3() Fornece o concentrado de acordo com a produção de leite da vaca

74-Qual o tipo de pastagem utilizada para as vacas em lactação?
 1() Convencional 2() Piquetes rotacionados 3() Piquetes rotacionados e irrigados

75-Você utiliza algum resíduo de indústria na alimentação do seu rebanho leiteiro?
 1() Não utiliza 2() Raspa de mandioca 3() Soro de leite
 4() Polpa de milho 5() Polpa Cítrica

81-Para qual categoria animal você fornece resíduo de indústria?
 1() Não fornece 2() Bezerros 3() Novilhas 4() Vacas secas 5() Vacas em lactação
 6() Todas as categorias; para todos os animais

76- Há sombreamento no pasto? Qual?

Sanidade Animal

77- Utiliza Homeopatia para tratar dos animais?
 1() Não 2() Sim Se sim; para qual finalidade? _____

78- Quais os problemas sanitários a propriedade tem: 1() Cascos 2() Mastite
 3() Abortos 4() Berne 5() Carrapatos 6() Mosca do chifre 7() Bicheiras
 8() Outros: _____

79- Utiliza Antibióticos?
 1() Sim 2() Não

80- Usa outros medicamentos

1 () Sim

2 () Não

Quais? _____