

JOYCI TORRES D'PAULA

**CONCENTRAÇÃO DA GLUTAMINA E COMPOSIÇÃO DO LEITE EM VACAS
HOLANDESAS DURANTE A LACTAÇÃO**

Recife

2013

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA

JOYCI TORRES D'PAULA

**CONCENTRAÇÃO DA GLUTAMINA E COMPOSIÇÃO DO LEITE EM
VACAS HOLANDESAS DURANTE A LACTAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciência Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Hélio Cordeiro Manso Filho.

Recife

2013

Ficha catalográfica

D755c d'Paula, Joyci Torres
Concentração da glutamina e composição do leite em vacas
Holandesas durante a lactação / Joyci Torres d'Paula. – Recife,
2013.
52 f. : il.

Orientador: Hélio Cordeiro Manso Filho.
Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) – Universidade
Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina
Veterinária, Recife, 2013.
Referências.

1. Aminoácido 2. Bioquímica 3. Bovino 4. Lactação
5. Ruminante I. Manso Filho, Hélio Cordeiro, orientador II. Título

CDD 636.089

Dedico esse título aos meus pais, Valéria e Durval,
que possibilitaram esta conquista.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, inicialmente, a Deus por guiar minhas escolhas e permitir concretizá-la.

À minha família, minha fortaleza, Pai (Durval) e Mãe (Valéria), que sempre me apoiaram e ajudaram no que foi preciso para eu alcançar meus objetivos. Minha irmã (Julliana) que sempre esteve ao meu lado. Ao meu irmão de coração (Durval Neto) pela proteção e carinho. E ao meu cunhado (Marcone) por me ajudar sempre que precisei. Além de minha filhote felina (Nina), que me acompanhou todas as madrugadas dissertantes.

À Família Sena que me acolheu como uma filha e esta sempre comigo, especialmente, Katarina, Tia Mira e Zé.

À Família Torres e àqueles da Família de Paula que torcem a cada minuto por nossa vitória.

A todos os meus Amigos que acompanharam essa difícil jornada, em especial aos grupos seguintes:

Às minhas Lulus (Roberta, Liliane, Thaís e Clarissa) que estiveram comigo desde o início desta caminhada e mesmo distantes nos amamos;

À Telguinha, meu braço, mão, pé, direito e esquerdo... que com toda boa vontade me ajudou e me ensinou muito em toda minha pesquisa;

Aos meus insanos (Vanessa, Camila, Humberto, Renan, Renata, Acidália, Marcelo e Fernanda) que completaram minha felicidade e fizeram de 2012 um ano mágico;

À minha *Mamadi* (Stephânia Katurchi), que foi meu anjo da guarda, sempre disposta a ajudar-me; além de colocar em minha vida uma filhote linda e inteligente (Sophia), que tanto amo.

Aos amigos de décadas (Ramona, Thatiani, Ighara, Ítalo Alves e Débora) que mesmo sem tempo e à distância mantêm os corações unidos;

Aos amigos da UFRPE que estiveram sempre na torcida por mim (Emanuela, Thábata, Juliana, Elton, Adalberto, Karina, Débora Navarro e Tássia);

Aos que assim como eu estão enlouquecendo com o mestrado, mas não desistem, Mariana e Leandro;

Aos meus veterinários preferidos Alessandro e Thiago Zacarias (só pra registrar, hoje entendo bem o que é fazer mestrado, mago);

Aos meus queridos vizinhos, Marcos, Michely e Alanys que foram grandes amigos no final dessa jornada;

À Ana Elysa, minha companheira de trabalho que me ajudou nas dificuldades e não teve egoísmo para ensinar-me o que sabia;

Aos Mestres que me formaram com prazer, principalmente, Maria Cristina, Lilian, Fernando e Leucio;

Ao meu Mestre e Orientador, Prof. Dr. Hélio, a quem tanto admiro. Meu muito Obrigada!

À professora Helena Emília e toda equipe do BIOPA por colaborar com meu aprendizado, especialmente à Mônica Hunka e Rafael Aquino, que consumiram muita glutamina, junto a mim;

Ao zootecnista Rafael Vargas (MSc), sem o qual este pesquisa não teria acontecido, por sua paciência e colaboração;

À Banca Examinadora por se disponibilizarem a colaborar com minha formação;

À UFRPE pela oportunidade de realizar esta pós-graduação e contribuir com meus conhecimentos;

À Ajinomoto do Brasil por colaborar financeiramente para a realização desta pesquisa, preocupados com o desenvolvimento da ciência e nutrição animal;

E por último, mas não menos importante, aos animais, que são a razão de eu escolher esta profissão e, hoje, sentir-me realizada, principalmente minhas fofuras: Nina, Bronso, Juno e Tiphany.

“De tudo, ficaram três coisas: a certeza de que ele estava sempre começando, a certeza de que era preciso continuar e a certeza de que seria interrompido antes de terminar. Fazer da interrupção um caminho novo. Fazer da queda um passo de dança, do medo uma escada, do sonho uma ponte, da procura um encontro.”

Fernando Sabino

RESUMO

A glutamina, aminoácido condicionalmente essencial, é considerada como fator limitante na produção leiteira. Assim, Objetivou-se mensurar a concentração de glutamina (GLN) mais glutamato (GLU) no leite e sangue de vacas leiteiras, a composição do leite e a contagem de células somáticas (CCS) nos diferentes períodos de lactação, além da concentração destes aminoácidos no sangue de seus respectivos bezerros. Foram colhidas amostras de sangue e leite de 21 vacas holandesas durante cinco meses da lactação e amostras sanguíneas de 28 bezerros nos três meses iniciais de vida. No sangue determinaram-se [GLN+GLU] e no leite verificaram-se a concentração de GLN+GLU, Lactose, Gordura, Proteína, Extrato Seco Total (EST) e CCS. Os resultados foram analisados pelo ANOVA, com significância de 5% e pelo teste de Tukey, com mesmo nível de significância. Observou-se que não houve diferença estatística ($P>0,05$) nas [GLN+GLU] no sangue de fêmeas e bezerros, nem na concentração destes no leite; a [Lactose], [Gordura] e CCS também não alteraram ($P>0,05$). Contudo, constatou-se maior teor proteico ($P<0,05$) no quinto e no décimo mês de lactação (~3,61%, em ambos), em relação ao primeiro, segundo e terceiro mês; o EST foi maior no décimo mês (~12,92%) relacionado ao primeiro e ao segundo mês de lactação (~11,83% e ~11,81%, respectivamente). Concluí-se que o período de lactação não interferiu na concentração sanguínea de glutamina mais glutamato, nem na concentração destes aminoácidos no leite, bem como não alterou a contagem de células somáticas e o teor de lactose e gordura, promovendo alterações apenas no nível de proteína e EST. Percebeu-se, ainda, que a idade do bezerro não influenciou a concentração sanguínea de glutamina mais glutamato.

Palavras chaves: Aminoácido, Bioquímica, Bovino, Lactação, Ruminante

ABSTRACT

The objective of this research was to measure the concentration of glutamine (GLN) plus glutamate (GLU) in milk and blood of dairy cows, milk composition ([Lactose], [Fat], [Protein], [Total solids]) and somatic cell count (SCC) in different periods of lactation, and the concentration of these amino acids in the blood of their calves. Samples of blood and milk were collected from 21 Holstein cows during five months of lactation (first, second, third, fifth and tenth) and serum samples from 28 calves in first three months of life. The results were analyzed by ANOVA, with 5% of significance and the Tukey test, with the same level of significance. There was not statistical difference ($P>0,05$) in [GLN + GLU] in the blood of the cows and calves, neither in the concentration of these amino acids in the milk; [Lactose], [Fat] and CCS also were not affected ($P>0,05$). It was observed higher protein content ($P<0,05$) in the fifth and tenth months of lactation ($\sim 3,61\%$ in both) relative to the first, second and third months; the total solids was higher in the tenth month ($\sim 12,92\%$) related to the first and second months of lactation ($\sim 11,83\%$ and $\sim 11,81\%$, respectively). The period of lactation did not affect [glutamine] plus [glutamate], neither in the concentration of these amino acids in milk. SCC, [lactose] and [fat] did not change, and only [protein] and [total solids] were significant different. There was no correlation with age of calf and [glutamine] plus [glutamate].

Keywords: Amino acid, Biochemistry, Bovine, Lactation, Ruminant

LISTA DE TABELAS

	Pág
Tabela 1. Concentração de Glutamina + Glutamato no leite e no sangue de vacas leiteiras da raça Holandesa durante os dez meses de lactação.	31
Tabela 2. Concentração sanguínea de Glutamina + Glutamato de vacas lactantes e bezerros lactentes nos meses iniciais da lactação.	32
Tabela 3. Contagem de Células Somáticas, Composição e Produção leiteira de fêmeas Holandesas confinadas em propriedades no agreste de Pernambuco.	33

LISTA DE ABREVIATURAS

ATP	Adenosina Trifosfato
BIOPA	Laboratório de Biologia Molecular Aplicada à Produção Animal
CCS	Contagem de Células Somáticas
EST	Extrato Seco Total
GLN	Glutamina
GLU	Glutamato
GS	Glutamina Sintetase
IGF	Fator de crescimento semelhante à insulina
IN 62/2011	Instrução Normativa nº 62.
IT-1	Interleucina Tipo 1
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
SNC	Sistema Nervoso Central
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
[]	Concentração
~	Aproximadamente
+	Mais
> / <	Maior / Menor que
®	Marca Registrada
°C	Graus Celsius
cél/mL	Célula por mililitro
μmol/mL	Micromol por mililitro
Km	Quilometro
mL	Mililitro
NH ₃	Amônia
nM	Nanômetro

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	13
1.1.	Justificativa	16
2.	OBJETIVOS	17
2.1.	Geral	17
2.2.	Específicos	17
3.	REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1.	Metabolismo da Glutamina e do Glutamato	18
3.2.	Metabolismo da Glutamina e do Glutamato em vacas lactantes	21
3.3.	Composição do leite e Contagem de Células Somáticas	23
4.	MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1.	Local da pesquisa e animais experimentais	25
4.2.	Coleta de material	25
4.3.	Processamento das amostras	26
4.3.1.	Análise da concentração de Glutamina + Glutamato	26
4.3.2.	Análise dos componentes leiteiros e CCS	27
4.4.	Análises Estatísticas	28
5.	RESULTADOS	29
6.	DISCUSSÃO	34
6.1.	Concentração de Glutamina + Glutamato em vacas lactantes	34
6.2.	Concentração de Glutamina + Glutamato em bezerros lactentes	36

6.3.	Variação dos componentes leiteiros e da Contagem de Células	
	Somáticas ao longo do ano	38
	6.3.1. Produção Leiteira	
	6.3.2. Lactose	38
	6.3.3. Gordura	39
	6.3.4. Proteína	40
	6.4. Contagem de Células Somáticas	40
		42
7.	CONCLUSÃO	44
8.	REFERÊNCIAS	45

1. INTRODUÇÃO

O Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) define leite, sem outra especificação, como produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 1952). Do ponto de vista físico-químico, o leite é uma mistura homogênea de lactose, glicérides, proteínas, sais, vitaminas e enzimas, entre outras substâncias (ORDONEZ, 2005).

O leite tem sido descrito como um dos alimentos naturais mais completos, devido ao seu elevado teor de nutrientes (NUNES et al, 2008). Em 2011, mais de 599 bilhões de litros de leite foram produzidos no mundo, segundo a Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO), sendo o maior produtor os Estados Unidos. O Brasil aparece como o quinto maior produtor mundial, com mais de 31 bilhões de litros, no entanto, apresenta baixa produtividade, cerca de 1,4 tonelada por animal ao ano, situando-se em 18ª colocação quanto à produtividade, neste mesmo ano. O país, detém um rebanho leiteiro produtivo com cerca de 23 mil animais, porém estes apresentam uma produção média de cinco litros/dia, o que justifica a baixa produtividade nacional.

A região Sudeste é o maior produtor do país, representando 35,5% da produção nacional, com menos de dez bilhões de litros produzidos por ano. O Nordeste produziu próximo de quatro bilhões de litros de leite em 2010, sendo responsável por 13% da produção nacional, a frente apenas da região Norte. Contudo, na produção do Nordeste houve um crescimento de 74% em uma década. Pernambuco teve um crescimento de 168%, de 2001 a 2010; enquanto Minas Gerais, o maior produtor do país, cresceu 38% no mesmo período. A produção pernambucana chegou próximo de 880 bilhões de litros no ano de 2010 e mais de 965 bilhões em 2011 segundo estimativa do IBGE, passando de 15º, em 2008, para 8º

colocado no *Ranking* dos Estados da Federação na produção de leite em 2010 segundo o Anuário da Pecuária Brasileira de 2011.

Apesar do aumento na produção, para o Brasil se tornar um dos principais exportadores do mundo faz-se necessário uma oferta de leite com a qualidade exigida pelo mercado consumidor (SOUZA et al. 2010). Estes autores afirmam que o pagamento do leite valorizando a qualidade e o teor de sólidos apresentou relevância na modernização da gestão da cadeia leiteira.

No Brasil, o pagamento baseia-se no volume do leite e em seu conteúdo de gordura, enquanto em países europeus como Holanda, Dinamarca e Suíça, o maior interesse tem sido quanto à qualidade e as proteínas do leite. Tendo em vista que este último é importante na fabricação de queijos, sendo determinantes no rendimento do produto (TEXEIRA et al., 2003).

A composição e a produção leiteira sofrem influência de diversos fatores, como nutrição, manejo, sanidade e ações de Bem Estar para o animal. Contudo, o estado de saúde do animal, bem como o escore corporal é de fundamental importância para o volume da produção leiteira.

O músculo é o principal produtor e armazenador do aminoácido glutamina que é utilizada como substrato energético por diversos tecidos, inclusive pela glândula mamária. A glutamina (GLN) é classificada como aminoácido não essencial, produzida por vários tecidos, especialmente o músculo esquelético. Este aminoácido está presente em várias proteínas e é importante para o crescimento e a manutenção de células de replicação rápida (ABREU et al., 2010).

Atualmente, observa-se que a demanda de alguns aminoácidos não essenciais podem aumentar em virtude do metabolismo acentuado, excedendo a capacidade do organismo de sintetizá-los, o que promove a necessidade de ingestão pelos animais, sendo assim

considerados condicionalmente essenciais (CURI, 2000). A GLN tem sido descrita como aminoácido condicionalmente essencial ao organismo em situações que levam a um intenso catabolismo tais como lactação, cirurgias, queimaduras extensas, septicemia e inflamações (MEIJER et al., 1995).

Este aminoácido apresenta-se como combustível energético para enterócitos e células do sistema imune, além de ser precursor de nucleotídeos, moléculas importantes no desenvolvimento e reparo das células de defesa e intestinais (ABREU et al., 2010). O consumo deste aminoácido está relacionado à presença da enzima glutaminase responsável por sua hidrólise dando origem a glutamato (GLU), reação reversível pela enzima glutamina sintetase (WALSH et al., 1998). Estes aminoácidos estão presentes em níveis diferentes no ambiente intra e extracelular, estando o GLU em maior quantidade dentro das células e a GLN no plasma (CURI, 2000).

Fêmeas bovinas necessitam de altas taxas destes aminoácidos durante o período de lactação. A GLN e o GLU são utilizados tanto como substrato proteico no úbere na síntese do leite, especialmente para síntese de caseína (MEIJER et al., 1995), quanto como substrato energético para os enterócitos, tendo em vista o déficit de glicose neste período (BELL, 1995). Desta forma, a GLN torna-se aminoácido limitante para a produção leiteira (MEIJER et al., 1995).

Superando a limitação da oferta de GLN, deve ocorrer o aumento da produção de leite no pós-parto e a melhora do *status* imunológico. Tais benefícios poderiam surgir primeiramente através do fornecimento de uma fonte de energia alternativa para o intestino, aumentando assim a disponibilidade de glicose para glândula mamária, e segundo, aumentando a oferta arterial de GLN para a glândula mamária e sistema imunológico (MEIJER et al., 1995).

1.1. Justificativa

A glutamina, tanto no período de lactação como em outras situações catabólicas, pode passar de aminoácido não essencial para essencial, devido à demanda ultrapassar a quantidade produzida pelo organismo. A presença deste aminoácido, junto ao glutamato, faz-se necessária como suporte energético e para a síntese proteica no leite, tornando-se substrato limitante na produção leiteira. Porém, apesar de alguns estudos relatarem que estes são os aminoácidos mais abundantes no leite e sangue, ainda são escassas as informações sobre as concentrações de GLN e GLU no sangue e no leite durante os diferentes períodos de lactação. Desta forma, fazem-se necessários estudos específicos sobre o tema. Devido o alto consumo destes aminoácidos pelas células de defesa e enterócitos, buscou-se verificar, também, as concentrações do mesmo em bezerros lactentes.

A CCS, os teores de gordura, proteína, lactose e sólidos totais no leite cru estão relacionados com o rendimento industrial e segurança alimentar, podendo variar durante os períodos da lactação e em caráter regional. Desta forma, uma investigação preliminar sobre este tema será iniciada como subsídio para trabalhos posteriores.

A identificação de dados podem servir de base para elaboração de alimentos contendo a quantidade necessária de GLN e GLU, promovendo, desta forma, maior eficácia na produção leiteira e redução dos custos de produtores, bem como base para novos estudos relacionados a estes aminoácidos em bovinos leiteiros, tendo em vista a importância do tema.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Objetivou-se caracterizar possíveis variações na concentração de glutamina mais glutamato em vacas leiteiras de alta produção.

2.2. Objetivos Específicos

- Mensurar as concentrações de GLN e GLU no leite e sangue de vacas de alta produção, em diferentes períodos de lactação.
- Mensurar as concentrações sanguíneas de GLN e GLU em bezerros lactentes.
- Verificar a Contagem de Células Somáticas no leite nos diferentes períodos de lactação.
- Verificar a concentração de gordura, lactose, proteína e de sólidos totais no leite nos diferentes períodos de lactação.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Metabolismo da Glutamina e do Glutamato

Os aminoácidos têm importantes funções fisiológicas e são classificados em essenciais e não essenciais. Porém alguns podem ser necessários em maior quantidade em determinados períodos, tornando-se “condicionalmente essenciais”. Entre estes aminoácidos, destaca-se a glutamina (GLN), que, por estar envolvida na multiplicação celular, é especialmente importante para tecidos de replicação rápida (ABREU et al., 2010).

Em 1873, Hlasiwetz e Habermann foram os primeiros a considerarem a glutamina como sendo uma molécula com propriedades biologicamente importantes. Enquanto Krebs, em 1935, demonstrou que células possuíam a capacidade de sintetizar ou degradar este aminoácido (CRUZART et al., 2009).

A glutamina é um aminoácido dispensável em condições normais e sintetizado por vários tecidos orgânicos. Este aminoácido é o mais abundante no sangue e no pool de aminoácidos livres, chegando a 80% do total. A concentração de glutamina no músculo esquelético é 30 vezes maior que a observada no sangue, e o mesmo considerado o principal local de estocagem e síntese deste aminoácido (ALBERTINI e RUIZ, 2001).

Os órgãos envolvidos na síntese da glutamina, além do músculo, são os pulmões, fígado, cérebro e, possivelmente, o tecido adiposo, os quais contêm atividade da enzima glutamina sintetase (GS), que catalisa a conversão de glutamina a partir de amônia e glutamato (GLU), na presença de ATP. No entanto, os tecidos que são primariamente consumidores de glutamina são as células da mucosa intestinal, leucócitos e células do túbulo renal, as quais contêm elevada atividade da enzima glutaminase, responsável pela hidrólise da glutamina e sua conversão em glutamato e amônia (WALSH et al., 1998).

Segundo Newsholme et al. (1999), o fígado é o único órgão que tanto consome como produz a glutamina. Os hepatócitos peri-portais apresentam alta concentração de glutaminase, enquanto os hepatócitos peri-venosos apresentam concentração elevada de glutamina-sintetase. Esses dois tipos de células respondem às concentrações de glutamina e amônia no sangue portal, captando ou liberando cada um desses elementos de acordo com as necessidades metabólicas do organismo.

A síntese de glutamina no cérebro é realizada, especialmente, para diminuir as concentrações de amônia local, evitando intoxicação, além de ser utilizada para síntese de GLU (ROWBOTTOM et al., 1996). No pulmão e no músculo esquelético, a glutamina sintetase é responsável pela manutenção da concentração de glutamina plasmática, sendo essencial em situações patológicas ou de estresse (PINEL et al., 2006). A glutaminase apresenta-se em isoformas, de acordo com o órgão onde se localiza. A enzima encontrada no fígado, glutaminase hepática, aumenta durante o jejum, diabetes e dietas ricas em proteínas, originando ureia e gliconeogênese. Enquanto a glutaminase renal, presente nos rins, cérebro, linfócitos e intestino, aumenta sua concentração em casos de acidose metabólica (CURTHOYS e WATFORD, 1995; CHUNG-BOK et al., 1997).

Hormônios como a insulina e os fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGFs) estimulam o transporte deste aminoácido para o meio intracelular, ao passo que glicocorticóides estimulam a liberação de glutamina para o meio extracelular (CRUZART et al., 2009). Seu transporte é realizado de forma ativa para dentro das células através de um sistema dependente de sódio, resultando em gasto de energia, e ocorre rapidamente, sua velocidade é superior a de todos os outros aminoácidos (NOVELLI et al., 2007).

A GLN é considerada combustível energético para as células intestinais e do sistema imunológico, além da glutamina ser precursora de nucleotídeos, moléculas importantes no desenvolvimento e reparo das células de alta replicação (ABREU et al., 2010). Os macrófagos

e os linfócitos utilizam a glutamina de forma semelhante à utilização da glicose. Este aminoácido estimula a proliferação de linfócitos e diferenciação das células B, produção de IL-1 e a fagocitose dos macrófagos (PADOVESE et al., 2000). A glutamina age, ainda, como uma transportadora de nitrogênio entre os tecidos, vindo a fazer parte da constituição de numerosas proteínas corpóreas, sendo precursora da síntese proteica (NEVES et al., 2003).

Curi (2000) sugeri que, como os níveis glicêmicos, os níveis de glutamina devem ser mantidos em quantidades constantes para assegurar o funcionamento de sistemas vitais, tais como o sistema nervoso central (SNC), sistema imunológico e sistema renal. As concentrações plasmática e tecidual de glutamina estão diminuídas em situações clínicas e catabólicas, tais como: lactação, traumas, queimaduras, sepse, pós-operatório, diabetes não controlada e após exercício exaustivo. Durante estas circunstâncias, a diminuição da concentração plasmática de glutamina ocorre devido à taxa de captação e utilização deste aminoácido por diversos tecidos ser superior à taxa de síntese e liberação pelo músculo esquelético (ROGERIO e TIRAPEGUI, 2003).

O catabolismo proteico leva à produção de glutamina de forma direta e também à síntese de glutamato, aspartato e asparagina (RENNIE et al., 2001; ROGERIO e TIRAPEGUI, 2003). A primeira etapa no metabolismo de aminoácidos de cadeia ramificada é a remoção reversível do radical NH_3 , que será transmitido para o 2-oxoglutarato, para a formação do glutamato e oxoácidos de cadeia ramificadas. Este aminoácido dentro das células pode ser produzido a partir da glutamina, absorvido da corrente sanguínea ou, a partir do catabolismo proteico (NOVELLI et al., 2007).

A produção do glutamato depende da ação da enzima glutaminase, encontrada em altas concentrações e associadas às mitocôndrias nas células que utilizam glutamina. Contrariamente, em alguns tecidos, como fígado e músculo esquelético, o glutamato e a amônia podem ser combinados pela ação da glutamina sintetase para a produção da glutamina

(CURI, 2000), chegando a representar 40% do total de glutamina produzido (NEVES et al., 2003). Segundo Medina et al. (2009), existe ainda a enzima glutamato desidrogenase, porém é incomum e atua tanto na biossíntese como na degradação do glutamato.

Segundo Curi (2000), o glutamato é o mais abundante aminoácido intracelular, enquanto a glutamina encontra-se em grande quantidade no sangue. Sua transferência para dentro da célula depende de transportadores de aminoácidos, presentes na membrana celular.

O glutamato, especialmente o proveniente da dieta, pode substituir a geração de energia e síntese de aminoácidos realizados pela glutamina (MEDINA et al., 2009). Do ponto de vista metabólico, a glutamina e o glutamato, são intercambiáveis como importante substrato para o sistema celular. Porém, Reeds et al. (2000), sugerem que o glutamato dietético tem outras funções importantes, aparentemente, diferentes das realizadas pela glutamina arterial. Estes mesmos autores verificaram que 95% do glutamato entérico é metabolizado na primeira passagem pela mucosa intestinal, isto em leitões de 24 dias de idade.

Newsholme et al. (2003), indicam que o glutamato é precursor da síntese de ornitina em macrófagos e monócitos, conectando-o com o ciclo da ureia, cujo resultado é a formação de arginina, substrato para a enzima óxido nítrico sintetase.

3.2. Metabolismo da Glutamina e do Glutamato em vacas lactantes

Uma série de adaptações fisiológicas ocorre nas vacas leiteiras no início da lactação, objetivando sempre a produção de leite em detrimento a outras atividades metabólicas, tais como: a manutenção, o crescimento e a atividade reprodutiva. Essas características estão relacionadas com as mudanças nas concentrações séricas hormonais favorecendo o suprimento de nutrientes para a glândula mamária prejudicando a nutrição de outros tecidos (DAVIS et al., 1994).

O período de lactação pode representar um estado catabólico em que a proteína muscular é mobilizada para atender às demandas da fêmea (CLOWES et al., 2003), Manso Filho et al. (2008) verificaram que em equinos a lactação promove um estado catabólico com perda de massa magra e do volume de glutamina presente no músculo. A fase mais crítica na vida da vaca leiteira se situa nos primeiros 21 dias de lactação, na qual ocorre a maior intensidade de mobilização de proteína corpórea, principalmente tratando-se de vacas de alta produção. Animais com esta característica secretam mais de 1 kg de proteína no leite por dia, o que é equivalente a mais de 30% de proteínas do plasma (CHILLIARD et al., 1983).

A primeira fonte de aminoácidos para a síntese de proteína do leite é o suprimento fornecido pela dieta, mas, se este suprimento for insuficiente, as fêmeas utilizam suas reservas orgânicas de proteína para fornecer aminoácidos ao feto. Porém, quando as reservas também são esgotadas o desenvolvimento fetal é prejudicado, devido à limitação na produção de leite (MANSO FILHO et al., 2008).

A glutamina, juntamente ao glutamato, são os principais aminoácidos livres no plasma e leite, Meijer et al. (1995) identificaram um declínio de 25 a 33% de glutamina nos níveis plasmáticos durante a lactação, o que levou a ser considerada limitante para a produção leiteira. No pós-parto imediato, o intestino utiliza a glutamina como fonte de energia, devido à deficiência de glicose, dependendo de precursores gliconeogênicos, aumentando a necessidade deste aminoácido no início da lactação (BELL, 1995).

As concentrações plasmáticas dos aminoácidos, deprimidas imediatamente após o parto, são geralmente restauradas entre a 2^a e a 4^a semana pós-parto. Entretanto, não ocorre o mesmo com a GLN, cuja concentração permanece baixa por maior período de tempo (DOEPEL et al., 2002). De acordo com Goff e Horst (1997), este déficit prolongado se justificaria por sua função no sistema imunológico, tendo em vista a ocorrência de imunodepressão no peri-parto. No plasma de vacas lactantes os níveis de GLN são

relativamente baixos em comparação a monogástricos, 0,190 a 0,300 $\mu\text{mol/mL}$ e 0,400 $\mu\text{mol/mL}$, respectivamente (MEIJER et al., 1995).

O principal fornecedor endógena de glutamina é o músculo esquelético, no entanto, durante a alta produção de leite e condições inflamatórias, a quantidade de GLN livre nas células musculares diminui em 75% (DAVIS et al., 1994).

3.3. Composição do Leite e Contagem de Células Somáticas

A composição leiteira apresenta impacto econômico no setor agropecuário. Desta forma, as concentrações de gordura, proteínas, lactose e extrato seco total (EST) devem ser avaliados. De acordo com a Instrução Normativa 62/2011 do MAPA (BRASIL, 2011), o Leite Cru Refrigerado deve apresentar teor mínimo de gordura de 3%, 2,9% de proteínas, 4,3% de lactose e 11,4% de extrato seco total. Estes componentes podem variar em função de diversos fatores que incluem raça, estágio da lactação, período do ano, alimentação, temperatura ambiente, quantidade de células somáticas, entre outros (PRATA, 2001 e MUHIBACH, 2011).

Os valores dos componentes variam entre uma ordenha e outra, bem como do início ao final da ordenha. O conteúdo de gordura é o mais afetado por este fator, aumentando gradativamente durante a ordenha, sendo a porção final mais rica em gordura (PRATA, 2001).. A época do ano irá influenciar devido à mudança de temperatura ambiente e umidade relativa do ar entre os períodos de inverno e verão, além de atuar na disponibilidade de alimentos para os animais (STUMPF et al., 2000)

Segundo Pereira et al. (1997) a contagem de células somáticas (CCS) irá influenciar diretamente nos valores dos componentes leiteiros. Estes autores defendem que o aumento da CCS promoveria redução nos teores de lactose, gordura e extrato seco total, porém quando a redução da produção é acentuada pode haver concentração na quantidade de gordura. Apenas

o teor proteico sofre alteração diretamente proporcional, ou seja, ao aumentar o valor da CCS aumenta também a quantidade proteica. Todavia, o aumento deste componente é devido às proteínas plasmáticas no leite em decorrência da resposta inflamatória, principal causa do aumento da CCS (BUENO et al., 2005).

Células Somáticas são células de defesa do organismo que migram do sangue para a glândula mamária junto a células secretoras descamadas (MACHADO et al., 2000). A Contagem de Células Somáticas, assim como a composição leiteira, é influenciada pelo estágio e ordem de lactação, estresse térmico e principalmente pela presença de infecções intramamárias provocadas por micro-organismos patogênicos (BUENO et al., 2005). A Instrução Normativa 62/2011 do MAPA determina que o valor máximo encontrado nos tanques de leite cru refrigerado sejam $7,5 \times 10^5$ cél/mL (BRASIL, 2011), valor acima dos previsto por organizações internacionais que preconizam taxas de $2,0 \times 10^5$ cél/mL para assegurar a qualidade do produto.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local da pesquisa e Animais experimentais

A pesquisa foi realizada com 21 vacas Holandesas, oriundas de duas fazendas do agreste de Pernambuco, uma situada no município de Gravatá e outra no município de São Bento do Una. Ambos os municípios encontram-se na meso região do agreste e microrregião do Vale do São Francisco, no planalto da Borborema. Gravatá localiza-se a 87 km do Recife, a 600 m de altitude e temperatura média de 22°C. Possui tipo de clima Tropical de altitude (RODRIGUES, 2007). O município de São Bento do Una está situado a 215 km da capital e 630m de altitude, com temperatura média de 23,8°C e possui clima Tropical chuvoso, com verão seco.

Os animais eram mantidos em sistema intensivo de criação, alimentados com 12 kg de concentrado (24% Proteína Bruta), palma, folha de mandioca ou silagem de milho, feno de estrela ou de alfafa e sal mineral e água *ad libidum*. A ordenha era realizada por ordenhadeira mecânica.

Dentre as fêmeas que participaram da pesquisa 15 eram primíparas e seis multíparas, contudo está variável não foi considerada na verificação dos resultados. Todos os animais adultos apresentavam o índice de escore corporal entre 2,5 e 3,5, segundo o padrão de Lago et al. (2001), anexo I.

4.2. Coleta de material

Foram colhidas 371 amostras, sendo 105 amostras de sangue de fêmeas bovinas e 210 amostras de leite, além de 56 amostras de bezerros lactentes. Nas fêmeas, coletaram-se amostras de sangue e de leite uma vez por mês, sendo no primeiro, segundo, terceiro, quinto e

décimo mês de lactação. Enquanto nos bezerros foram colhidas amostras de sangue no primeiro e no terceiro mês de vida.

As amostras sanguíneas foram colhidas através de venopunção da jugular (01 mL) em tubos contendo heparina, sendo o sangue imediatamente acidificado com ácido perclórico (1:1) para posterior neutralização, conforme Manso Filho et al. (2008). As amostras foram transportadas sob refrigeração ao Laboratório de Biologia Molecular Aplicada à Produção Animal (BIOPA/UFRPE), no tempo máximo de 48h. No laboratório BIOPA, as amostras foram neutralizadas com hidróxido de potássio e congeladas a até o momento das análises, pela técnica de espectrofotometria.

Das 210 amostras de leite, 105 foram coletadas para as análises de concentração dos aminoácidos (01 mL) em tubos de polipropileno graduados, sendo imediatamente acidificado para posterior neutralização e análise da concentração de aminoácidos como nas amostradas de sangue. As outras 105 foram colhidas em frascos estéreis padronizados (40 mL), de polietileno, com conservante bronopol (2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol) para a manutenção da qualidade do leite e transportadas sob refrigeração ($< 7^{\circ}\text{C}$) ao Laboratório PROGENE (UFRPE), para a realização das análises de composição química do leite e contagem de células somáticas. Os resultados das análises de composição e CCS foram obtidos junto ao técnico de Registro Oficial de Gado Holandês da Associação de Criadores de Pernambuco.

As amostras de leite foram coletadas diretamente do filtro medidor da ordenhadeira mecânica, ao final da ordenha da manhã. A colheita do sangue foi realizada na saída da sala de ordenha com o objetivo de não estressar os animais.

4.3. Processamento das amostras

4.3.1 Análise da concentração de Glutamina + Glutamato

As coletas de sangue foram realizadas uma vez por mês, no primeiro, segundo, terceiro, quinto e décimo mês de lactação. O sangue foi coletado na veia jugular utilizando-se tubos vacutainer. Após a coleta, o sangue foi desproteïnizado com solução de ácido perclórico (PCA) a 10% e centrifugado e neutralizado com 1,0 M de hidróxido de potássio (KOH). As amostras foram acondicionadas à -20°C para leitura no espectrofotômetro com comprimento de onda 340 nm, segundo para determinação das concentrações de glutamina e glutamato.

As concentrações de GLN e GLU foram expressas em $\mu\text{mol/mL}$ de sangue/leite. As amostras desproteïnizadas-neutralizadas foram usadas para medir as concentrações de Gln e Glu segundo técnica descrita por Manso et al. (2012). Inicialmente, 0,20 mL da amostra desproteïnizada foi misturada com 0,25 mL de acetato de sódio (0,5 M, pH 5) e 0,05 mL de glutaminase (SIGMA, G-8880 – 10 units).

Em seguida esta solução foi misturada e incubada em banho-maria durante uma hora à 37°C, com o objetivo de converter toda a glutamina em glutamato. Paralelamente, 0,5 mL da amostra foram misturados a 1,5 mL de uma solução tampão (Tris 0,2 M, pH 9; 15 mL água; 0,3 mL de hidrazina e 0,09 mM de NAD^+). As amostras misturadas às soluções foram transferidas para os cubetas e lidas no espectrofotômetro em 340 nm. A glutamato desidrogenase foi acrescentada a solução e feito uma nova leitura no intervalo de 30 minutos.

A diferença entre a primeira e a segunda leitura representou o total de glutamina e glutamato e o total de glutamato. A concentração de glutamina foi obtida através da subtração entre o total de glutamato e o total de glutamina mais glutamato. Estes resultados foram multiplicados pelos fatores de diluição de cada amostra neutralizada para o resultado final.

4.3.2. Análise dos Componentes leiteiro e da CCS

A análise da composição química do leite englobava o teor de gordura, proteína, lactose e extrato seco total, sendo realizadas através do equipamento Bentley 2000[®], da

Bentley instruments. Este equipamento analisou os componentes químicos por ondas na faixa de infravermelha. A contagem das células somáticas foi realizada em contador eletrônico Somacount 300[®] (Bentley Instruments), com o resultado é expresso em células por mL. As informações de composição e CCS do leite foram armazenadas em banco de dados para posterior análise

4.4. Análises Estatísticas

Os dados inicialmente foram avaliados pelo programa SigmaStat[®], utilizando Análise de Variância (ANOVA), com nível de significância estabelecido em 5% ($P < 0,05$). Em seguida, as diferenças entre as médias foram identificadas através do teste de Tukey, também em nível de significância de 5% ($P < 0,05$).

5. RESULTADOS

Analisando as amostras de sangue e leite, verificou-se que não houve diferenças estatísticas ($P>0,05$) nas concentrações de glutamina e glutamato nas análises (Tabela 1), nem nas amostras dos bezerros ($P>0,05$), Tabela 2. A concentração sanguínea de glutamina e glutamato nas fêmeas apresentaram valores próximos aos encontrados no leite ($\sim 0,387 \mu\text{mol/mL}$ e $\sim 0,415 \mu\text{mol/mL}$, respectivamente). Considerando as amostras de sangue, os valores verificados nas amostras dos bezerros foram numericamente superior às concentrações verificadas no sangue das fêmeas no primeiro mês de lactação ($\sim 0,467 \mu\text{mol/mL}$ e $\sim 0,372 \mu\text{mol/mL}$, respectivamente) tornando-se igual no terceiro, $\sim 0,431 \mu\text{mol/mL}$ no sangue dos bezerros e $\sim 0,430 \mu\text{mol/mL}$ nas fêmeas.

O volume da produção leiteira dos animais pesquisados manteve-se regular, não apresentando diferenças estatísticas do início ao fim da lactação ($P>0,05$), tendo uma produção média de 28,15 Kg por dia (Tabela 3). Os componentes do leite variaram durante a lactação, porém apenas na proteína e no extrato seco total verificaram-se diferenças significativas ($P<0,05$). Sendo assim, os demais componentes do leite, a concentração de células somáticas e a concentração de aminoácidos (glutamina mais glutamato) foram estatisticamente semelhantes durante a lactação ($P>0,05$).

Na análise dos componentes lácteos observou-se que o teor proteico no décimo mês de lactação ($\sim 3,61\%$) foi estatisticamente superior em relação aos demais meses avaliados (Tabela 3). O extrato seco total também sofreu influência pelo período da lactação, tendo o período final, o décimo mês, apresentado o maior teor de EST ($\sim 12,92\%$) quando relacionado aos meses analisados; contudo diferiu estatisticamente ($P<0,05$) apenas do primeiro e do segundo mês ($\sim 11,81\%$ e $11,83\%$, respectivamente), estágios iniciais da lactação (Tabela 3).

A percentagem de gordura manteve-se constante durante toda a lactação com valores entre 3,25% e 3,79% (Tabela 3), não havendo diferenças estatísticas entre os meses que foram analisados ($P>0,05$). Da mesma forma, a lactose também não sofreu influência pelo período da lactação ($P>0,05$), mantendo uma média de 4,58% durante toda a lactação (Tabela 3).

Verificou-se uma média de $2,1 \times 10^5$ cél/mL por mês (Tabela 3), valor que atende a IN 62/2010 do MAPA, tendo valores estatisticamente semelhantes do início ao fim da lactação ($P>0,05$).

Tabela 1. Concentração de Glutamina + Glutamato no leite e no sangue de vacas lactantes da raça Holandesa em propriedades no agreste de Pernambuco, 2011/2012.

Mês / lactação	[Gln+Glu] ($\mu\text{mol/mL}$)	
	Leite	Sangue
Primeiro	$0,473 \pm 0,05^A$	$0,372 \pm 0,08^A$
Segundo	$0,388 \pm 0,04^A$	$0,383 \pm 0,07^A$
Terceiro	$0,413 \pm 0,04^A$	$0,431 \pm 0,07^A$
Quinto	$0,398 \pm 0,05^A$	$0,382 \pm 0,03^A$
Décimo	$0,407 \pm 0,04^A$	$0,370 \pm 0,03^A$

Observação: Os valores foram expressos em Média \pm Erro Padrão Médio. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Tabela 2. Concentração de Glutamina + Glutamato no sangue de vacas lactantes e bezerros lactentes em propriedades no agreste de Pernambuco, 2011/2012.

Mês	de	[Gln+Glu] ($\mu\text{mol/mL}$)	
		Leite	Bezerros
Primeiro		0,473 \pm 0,05 ^A	0,467 \pm 0,02 ^A
Terceiro		0,413 \pm 0,04 ^A	0,430 \pm 0,02 ^A

Observação: Os valores foram expressos em Média \pm Erro Padrão Médio. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

1 **Tabela 3.** CCS, Composição e Produção leiteira de vacas Holandesas confinadas em propriedades no agreste de Pernambuco, 2011/2012.

Mês/ Lactação	%Gordura	%Proteína	%Lactose	%EST	CCS x 10 ⁵	
					CS/mL	Produção (Kg/dia)
Primeiro	3,26 ± 0,16 ^A	2,98 ± 0,08 ^B	4,56 ± 0,07 ^A	11,81 ± 0,19 ^B	2,3 ± 0,80 ^A	27,00 ± 2,65 ^A
Segundo	3,25 ± 0,13 ^A	2,94 ± 0,08 ^B	4,66 ± 0,03 ^A	11,83 ± 0,18 ^B	2,7 ± 0,18 ^A	30,20 ± 2,68 ^A
Terceiro	3,47 ± 0,23 ^A	2,99 ± 0,07 ^B	4,58 ± 0,20 ^A	12,18 ± 0,22 ^{AB}	1,1 ± 0,34 ^A	28,86 ± 2,09 ^A
Quinto	3,51 ± 0,16 ^A	3,61 ± 0,08 ^A	4,55 ± 0,03 ^A	12,39 ± 0,20 ^{AB}	2,4 ± 0,10 ^A	28,02 ± 2,19 ^A
Décimo	3,79 ± 0,15 ^A	3,61 ± 0,07 ^A	4,55 ± 0,42 ^A	12,92 ± 0,9 ^A	2,1 ± 0,76 ^A	26,71 ± 2,17 ^A

2 Observação: Os valores foram expressos em Média ± Erro Padrão Médio. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística pelo teste
3 de Tukey (P<0,05).

4

6. DISCUSSÃO

6.1. Concentração de Glutamina + Glutamato em vacas lactantes

Sabe-se que as concentrações plasmática e tecidual de glutamina estão diminuídas em situações clínicas e catabólicas, tais como: traumas, queimaduras, sepse, pós-operatório, diabetes não controlado, exercício exaustivo e lactação. O período de lactação pode representar um estado catabólico em que a proteína muscular é mobilizada para atender às demandas da fêmea, podendo causar perda de massa corporal (CLOWES et al., 2003).

Watford et al. (2011) sugerem que as concentrações plasmáticas de glutamina em indivíduos saudáveis devem variar de 0,300 a 0,800 $\mu\text{mol/mL}$, na maioria das espécies. Porém, com o método utilizado, não foi possível verificar a concentração de glutamina isoladamente, neste caso consideramos a concentração de glutamina junto à de glutamato. A média das concentrações de glutamina mais glutamato foi de 0,387 $\mu\text{mol/mL}$, o que sugere que a concentração de glutamina esteja abaixo do valor apresentado pela literatura, como a identificada por Doepel et al. (2006), média de 0,227 $\mu\text{mol/mL}$ de glutamina, enquanto Manso et al. (2012) registraram média de 0,890 $\mu\text{mol/mL}$ de glutamina mais glutamato sérico em fêmeas suínas no pós parto imediato.

Doepel et al. (2006) não identificaram diferenças estatísticas na produção leiteira e na quantidade de proteína entre animais suplementados com glutamina e animais sem suplementação. Entretanto, estes autores observaram aumento de aproximadamente 55% na concentração plasmática de glutamina nos animais suplementados.

Os estudos de Meijer (1995) e Doepel et al. (2006) defendem que as concentrações plasmáticas de glutamina mantêm-se baixas até a sexta semana pós-parto, devendo após este período retonar aos valores do pré-parto. Contudo, não identificamos diferenças nos valores

dos aminoácidos analisados entre o primeiro mês (04 semanas) e o segundo mês de lactação (08 semanas), período nos quais os valores de glutamina deveriam ter regularizado.

Verificou-se que não houve diferença significativa durante toda lactação na concentração de glutamina mais glutamato. Apesar de a literatura citar que as concentrações destes aminoácidos aumentam na vaca pós-parto, devido à necessidade de aminoácidos para a síntese proteica do leite; ao aumento na massa da glândula mamária; à atividade intestinal e ao gasto energético aumentado em todo o organismo (PLAIZIER et al., 2001), esta característica não foi observada nos animais pesquisados, cujos valores mantiveram-se constante do pós-parto imediato ao fim da lactação. Tendo em vista que estas vacas são animais de alta produção a demanda pode ter estado aumentada para a produção leiteira ou para a manutenção homeotérmica destes animais. Segundo a literatura estes animais necessitam de maior aporte energético para a manutenção térmica.

Em nossas análises, a concentração sanguínea de glutamina e glutamato limitou-se a $\sim 0,387 \mu\text{mol/mL}$, demonstrando valor abaixo dos encontrados por Meijer et al. (1995) que obtiveram concentrações plasmáticas até $0,300 \mu\text{mol/mL}$ apenas para a glutamina. Zavarize et al. (2010) relatam que a glutamina é utilizada como regulador metabólico para aumentar a síntese e reduzir o catabolismo proteico, sua utilização mantém-se alta durante toda a lactação, reduzindo suas concentrações sanguíneas. Assim pode-se considerar que os animais avaliados na pesquisa necessitaram de maior aporte energético para a manutenção corpórea, devido às temperaturas enfrentadas no local.

Apesar de Wu et al. (1995) defenderem que a glutamina é o aminoácido mais abundante no leite da maioria das espécies, este aminoácido apresentou-se em baixas concentrações nas amostras de leite analisadas, com média de $0,416 \mu\text{mol/mL}$. Estes aminoácidos, segundo Eigel et al. (1984), são utilizados para a produção de leite, cerca de 25% da caseína é formada por estes aminoácidos. Esta proteína é a mais importante do leite,

sendo utilizada especialmente para nutrir os bezerros assim como para produção de derivados na indústria láctea.

Meijer et al. (1995) observaram algumas particularidades no metabolismo de glutamina em ruminantes: a) Os ruminantes têm uma quantidade relativamente baixa de glutamina sintetase em comparação com espécies monogástricos, refletido nos níveis de glutamina plasmática; b) a captação de glutamina pela glândula mamária é efetivamente 100% do suprimento arterial; c) a produção de leite em vacas de alta produção representa um estresse metabólico comparável ao jejum ou acidose; e d) a resposta da glutamina ao "estresse metabólico", incluindo alta produção de leite, se assemelham às da maioria dos aminoácidos essenciais (EAA). No entanto, apesar da importância, o papel dos aminoácidos não essenciais (NEAA), entre eles a glutamina, na síntese de proteínas do leite em vacas de alta produção láctea tem sido praticamente negligenciado.

Estudos com diversas espécies têm demonstrado que a suplementação com glutamina, seja em nutrição enteral ou parenteral, promovem vários benefícios ao organismo animal, dentre eles têm-se a melhora do crescimento, do reparo e do funcionamento da mucosa intestinal (ZIEGLER et al., 2000).

6.2. Concentração sanguínea de glutamina mais glutamato em bezerros lactentes

A glutamina desempenha um importante papel na manutenção e desenvolvimento dos enterócitos, favorecendo o desenvolvimento dos vilos e, conseqüentemente, potencializando o poder absorptivo do intestino delgado (CURI, 2000). Tendo em vista que animais jovens não são capazes de sintetizá-la em quantidades suficientes a atender às exigências nutricionais, devido estes animais não produzirem glutamina sintetase, o consumo deste aminoácido é essencial para estes animais.

As concentrações sanguíneas de glutamina e glutamato dos bezerros analisados não apresentaram diferenças estatísticas significativas. Contudo, considerando que a glutamina e o glutamato agem como precursores de nucleotídeos e de poliaminas, como fonte de energia para a mucosa, interferindo nas renovações dos enterócitos (CURI, 2000), o consumo pode ter sido aumentado em bezerros mais velhos devido aos desafios orgânicos enfrentados, diminuindo as concentrações sanguíneas.

Observou-se, também, que a concentração de glutamina e glutamato no leite apresentaram valores próximos dos encontrados no sangue de bezerros, no leite identificaram-se 0,473 e 0,413 $\mu\text{mol/mL}$, enquanto nos bezerros observaram-se 0,467 e 0,430 $\mu\text{mol/mL}$, no primeiro e terceiro mês respectivamente. Sugerindo a utilização destes aminoácidos pelas crias durante o período de amamentação

O desmame dos animais pesquisados ocorreu entre o terceiro e o quarto mês de vida, e esta transição de dieta líquida e frequente, para uma dieta sólida e menos frequente, implica em uma série de alterações na fisiologia digestiva. Machado et al. (2000) defende que a retirada do leite como alimento principal de leitões promove um drástico decréscimo no aporte de imunoglobulinas, além de alterações estruturais e funcionais do tecido intestinal, como redução na altura das vilosidades e o aumento na profundidade das criptas, diminuindo a capacidade de absorção de nutrientes.

O trato gastrintestinal é o principal órgão de utilização de glutamina e sua captação ocorre fundamentalmente nas células epiteliais dos vilos do intestino delgado (CURI, 2000), com a redução da altura da vilosidade ocorreria à redução na captação de glutamina.

Observou-se que em bezerros leiteiros desafiados com endotoxinas, a suplementação de 1% de glutamina no leite líquido atenuou a queda das concentrações plasmáticas de aminoácidos essenciais e não essenciais e também facilitou a recuperação de neonatos da sepse (WU et al., 2007).

Os enterócitos absorvem a glutamina do lúmen intestinal, especialmente, pela facilidade de captação na região apical destas células. Assim a presença da mesma na dieta, diminui a utilização de glutamina plasmáticas em aproximadamente em 40% (CURI, 2000), como isso a suplementação deste aminoácido e precursores permitiriam um maior aporte de glutamina plasmática e, conseqüentemente, para as células do sistema de defesa destes animais.

Em suínos a suplementação de glutamina na alimentação de filhotes já é realizada com maior frequência. Machado (2000), avaliando o desenvolvimento de leitões, afirma que a suplementação estimula o consumo da ração, contribui para a integridade e função intestinal, promove equilíbrio da microbiota entérica, estimula o desenvolvimento da imunidade ativa e aperfeiçoar o desempenho futuro dos animais.

Ao comparar os valores das concentrações sanguíneas de glutamina mais glutamato dos bezerros com as fêmeas lactantes observa-se que no primeiro mês o valor foi maior na cria, o que poderia ser resquícios da glutamina transferida em altas taxas para o feto através da placenta, segundo Battaglia (2000) este é o aminoácido transferido em maior quantidade para o sangue fetal.

6.3. Variação dos Componentes Leiteiros e da Contagem de Células Somáticas ao longo do ano

6.3.1 Produção Leiteira

Diferentes autores têm demonstrado a importância de se conhecer a qualidade da produção láctea na granja leiteira, bem como a composição láctea. O volume de produção e a concentração dos componentes do leite podem variar em função de diversos fatores que

incluem raça, estágio da lactação, período do ano, alimentação, temperatura ambiente, quantidade de células somáticas, entre outros (PEREIRA et al., 1997; PRATA, 2001; MUHIBACH, 2011).

Sabe-se que a produção leiteira em bovinos aumenta gradativamente até atingir o pico de produção na oitava ou nona semana pós-parto, ocorrendo sua redução posteriormente. O volume pode variar em função de diversos fatores como visto anteriormente (GONZALEZ, 2001). Contudo, o volume de leite produzido pelos animais desta pesquisa manteve-se constante durante os meses de lactação avaliados, não havendo diferença significativa entre o primeiro e o último mês de lactação, nem mesmo no segundo mês (oitava semana), período no qual deveria ocorrer o pico de lactação nesses animais.

Este dado, é diferente dos achados de Perissinotto et al. (2007), os quais constataram que vacas leiteiras modificam o volume de produção ao longo da lactação, por exemplo, reduzindo a produção de leite e o teor de seus componentes nos meses quentes com temperatura do ar mais elevado, tendo em vista que os animais priorizam energia para a manutenção homeotérmica. Os diferentes períodos do ano influenciam, ainda, com a modificação na qualidade do alimento ofertado e conseqüentemente os níveis de nutrientes absorvidos e direcionado à produção láctea.

A composição leiteira apresenta impacto econômico no setor. Desta forma, os valores de gordura, proteínas, lactose e sólidos totais devem ser avaliados. De acordo com a Instrução Normativa 62/2011 do MAPA (BRASIL, 2011).

6.3.2. Lactose

Dentre os componentes leiteiros, Gonzalez et al. (2001) e Prata (2001) consideram a lactose o principal item para a produção leiteira. Segundo estes autores, a lactose funciona como fator osmótico, seu volume induzirá ou não a drenagem de água nas células epiteliais

mamárias, interferindo no volume do leite produzido. Desta forma, a lactose é o componente que menos tem variação durante o período de lactação, o que justifica o equilíbrio nos valores de lactose nos meses analisados, sem apresentar diferença estatística entre eles.

A média da lactose esteve próximo ao valor preconizado pela Instrução Normativa 62/2011 do MAPA (~4,6%). Este açúcar é a principal fonte de glicose para ruminantes neonatos, cuja formação ocorre pela ação da enzima lactase presente no intestino destes animais (GONZALEZ et al., 2001), além de ser extremamente necessária às fêmeas lactantes para a manutenção corpórea, eficiência reprodutiva, desenvolvimento fetal e produção leiteira.

Em condições tropicais, como a verificada no agreste de Pernambuco, o mês ou a estação do ano são importantes causas de variação na produção e composição leiteira. As alterações térmicas do ambiente exercem forte influência sobre o desempenho animal, tendo em vista que afetam os mecanismos de transferência de calor, promovendo desgastes dos animais e maior consumo energético (PERISSINOTTO, 2007).

6.3.3. Gordura

Segundo Prata (2001), o teor de gordura é o que mais sofre variação dentre os componentes leiteiros. No entanto, este componente não apresentou diferença estatística nas amostras analisadas, com média de 3,45% ao longo da lactação, valor próximo ao preconizado pela Instrução Normativa 62/2011 do MAPA.

A gordura do leite é uma mistura de mais de 100.000 tipos de triglicerídeos e essa composição tão variada é responsável por propriedades sensoriais, físicas e nutricionais exclusivas, segundo Nunes et al. (2010), o que permite a produção de derivados de alta qualidade. Desta forma, um produto com teor de gordura estável pode ter valor agregado para vendas às indústrias de derivados lácteos, tendo em vista a manutenção da qualidade destes derivados.

6.3.4. Proteína

Para Bohmanova et al. (2007), diferenças sazonais na produção e na composição do leite são causadas por mudança de temperatura e umidade durante o ano, promovendo diminuição da matéria seca, o que prejudica à nutrição. Dentre os componentes que sofrem variação ao longo do ano, têm-se as proteínas.

A composição proteica total é formada por várias proteínas específicas, dentre elas a mais importante é a caseína. Esta proteína apresenta aminoácidos, apropriadas para o crescimento dos animais jovens. Outras proteínas importantes são as imunoglobulinas, proteínas do soro que variam segundo o estágio de lactação e a presença de infecções intramamárias, entre outros fatores (GONZALEZ et al., 2001).

Estas imunoglobulinas encontram-se em maior volume nos estágios iniciais da lactação devido a produção do colostro que possuem altos níveis de proteínas para auxiliar o sistema de defesa dos neonatos. Contudo, o maior teor proteico foi no período final da lactação, o que nos sugere que outros fatores atuaram nessa concentração, como a presença de infecções no rebanho.

Pode-se considerar a possibilidade de ocorrência destas infecções mamárias na metade final da lactação, causando aumento de células de defesa na glândula mamária para o combate a bactérias patogênicas, sendo estas células proteínas do soro que são contabilizadas junto às demais proteínas lácteas (BUENO et al., 2005).

Os precursores para a síntese das proteínas do leite são aminoácidos livre no sangue e proteínas séricas (em 90% e 10%, respectivamente). Os aminoácidos essenciais são absorvidos a partir do sangue, enquanto os aminoácidos não essenciais são absorvidos como

aminoácidos livres no sangue ou sintetizados pela glândula mamária (GOZALEZ et al., 2001).

Este componente pode sofrer ação de diversos fatores, sejam eles nutricional, ambiental ou condições de estresse (PEREIRA et al., 1997; SANTOS e FONSECA, 2006), Doepel et al. (2002), ainda, sugerem que há uma redução na quantidade de aminoácidos durante o pós-parto imediato, o que poderia ser outra causa para o menor teor proteico nas amostras dos meses iniciais da lactação.

6.4. Contagem de Células Somáticas

De acordo com Teixeira et al. (2003), nos meses de inverno pode haver aumento no valor da CCS e conseqüentemente no valor proteico, devido ao confinamento dos animais que aumenta o risco de infecção mamária. Entretanto, outros autores relatam que na estação seca o animal está mais exposto à infecção no úbere tendo em vista que o ambiente quente e úmido permitiu maior proliferação de patógenos ambientais.

A CCS tem sido considerada medida padrão de qualidade, pois está relacionada à composição e rendimento industrial do leite e à segurança alimentar, além de indicar o estado sanitário das glândulas mamárias (SANTOS, 2001). A mastite altera a composição do leite por modificar a permeabilidade dos vasos sanguíneos e alterar síntese no tecido secretor. (MACHADO, 2000). O aumento dos valores de CCS pode promover diminuição no teor de gordura; aumento nos níveis proteicos, já a lactose e o EST devem estar com valores reduzidos (PEREIRA et al., 1997).

Pereira et al. (1997), não verificaram efeito da contagem de células somáticas sob a produção do leite e a quantidade de gordura. Em nossas análises, também não identificamos ação sob os constituintes e sob a produção leiteira, visto que a mesma manteve-se constante durante toda lactação. Entretanto Silva et al. (2011), identificam a relação do aumento de CCS

sobre os constituintes do leite, em seu estudo, porém demonstra que os constituintes se mantiveram quase que estáveis, observando alterações apenas com altos valores de CCS.

A literatura relata que na ausência de infecções a CCS apresentava pouca variação durante toda a lactação. Texeira et al. (2003) constataram haver uma tendência de ocorrer CCS alta no início da lactação, com decréscimo até a sexta semana e crescimento linear até secagem. Contudo, em nossos estudos não houve diferença estatística entre o valor encontrado no primeiro mês de lactação e o último (décimo). Os valores estiveram abaixo do valor preconizado pela Instrução Normativa 62/2011 do MAPA para a região Nordeste a partir de 2012, que determina máximo de $7,5 \times 10^5$ cél/mL. A média de $2,1 \times 10^5$ cél/mL fica próximo dos valores que a literatura relatada como glândula sadia, $2,5 \times 10^5$ cél/mL (MAGALHÃES et al., 2006) , acima destes valores já se consideram a presença de mastite subclínica no rebanho.

A CCS interfere diretamente na composição leiteira, assim um produto com baixa contagem de célula somática permite um maior rendimento na fabricação de subprodutos (SANTOS, 2002). Desta forma, alguns laticínios bonificam o preço do produto em relação à baixa quantidade de células somáticas (MAGALHÃES et al., 2006).

7. CONCLUSÕES

Nas condições do trabalho, foi possível concluir:

- O período de lactação não interferiu na concentração de glutamina mais glutamato no leite e sangue de vacas lactantes;
- A concentração de glutamina + glutamato não sofreu alteração nos primeiros 2 meses de idade de bezerros
- As concentrações de gordura, lactose e a contagem de células somáticas não sofreram influência do período de lactação
- A concentração proteína e do extrato seco total apresentaram maiores valores no final da lactação.

REFERÊNCIAS

- ABREU, M. L. T.; DONZELE, J. L.; SARAIVA, A.; OLIVEIRA, R. F. M.; FORTES, E. I.; GRAÑA, G. L. Glutamina, nucleotídeos e plasma suíno em rações para leitões Desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.3, p.520-525, 2010.
- ALBERTINI, S. M.; RUIZ, M. A. O papel da glutamina na terapia nutricional do transplante de medula óssea. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.23, n.1, p.41-47, 2001.
- BATTAGLIA, F. C. Glutamine and Glutamate Exchange between the Fetal Liver and the Placenta. **Journal Nutrition**, v.130, p.974S–977S, 2000.
- BELL, A. W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. **Journal Animal Science**, v.73, p.2804–2819, 1995.
- BOHMANOVA, J.; MISZTAL, I.; COLET, J. B. Temperature-humidity índices as indicators of Milk production losses due to heat stress. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.4, p.1947-1956, 2007.
- BRASIL. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA. Brasília. **Diário Oficial da União**. Decreto nº 30.691 de 29 de março de 1952.
- BRASIL. Instrução normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Diário Oficial da União**, Seção 1, Brasília, p.6-11, 2011.

- BUENO, V. F. F.; MESQUITA, A. J.; NICOLAU, E. S.; OLIVEIRA, A. N.; OLIVEIRA, J. P.; NEVES, R. B. S.; MANSUR, J. R. G.; THOMAZ, L. W. Contagem celular somática: relação com a composição centesimal do leite e período do ano no Estado de Goiás. **Ciência Rural**, v.35, n.4, p.848-854, 2005.
- CHILLIARD, Y.; REMOND, B.; SAUVANT, D.; VERMOREL, M. Particularités du Métabolisme énergétique. In: Particularités nutritionnelles des vaches à haut potentiel de production. **CRZV**, v.53, p.37-64, 1983.
- CHUNG-BOK, M.; VINCENT, N. J.; HALA, U.; WATFORD, M. Rat hepatic glutaminase: Identification of the full coding sequence and characterization of a functional promoter. **Journal of Biochemistry**, v.324, p.193-200, 1997.
- CLOWES, E. J.; AHERNE, F. X.; SCHAEFER, A. L.; FOXCROFT, G. R.; BARACOS, V. E. Parturition body size and body protein loss during lactation influence performance during lactation and ovarian function at weaning in first parity sows. **Journal Animal Science**, v.81, p.1517–1528, 2003.
- CURI, R. **Glutamina**: metabolismo e aplicações clínicas e no esporte. Rio de Janeiro: Editora Sprint; 2000.
- CURTHOYS, N. P.; WATFORD, M. Regulation of glutaminase activity and glutamine metabolism. **Revista de Nutrição**, v.15, p.133-159, 1995.
- CRUZART, V. F.; PETRY, E. R.; TIRAPEGUI, J. Glutamina: Aspectos Bioquímicos, Metabólicos, Moleculares e Suplementação. **Revista Brasileira de Medicina Esportiva**, v.15, n.5, p.392-397, 2009.

- DAVIS, T. A.; NGUYEN, H. V.; GARCIA-BRAVO, R.; FIOROTTO, M. L.; JACKSONZ, E. M.; REEDS, P. J. Amino acid composition of the milk of some mammalian species changes with stage of lactation. **British Journal of Nutrition**, v.72, p.845-853, 1994.
- DOEPEL, L.; LAPIERRE, H.; KENNELLY, J. J. Peripartum performance and metabolism of dairy cows in response to prepartum energy and protein intake. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.2315–2334, 2002.
- DOEPEL, L.; LESSARD, M.; GAGNON, N.; LOBLEY, G. E.; BERNIER, J. F.; DUBREUIL, P.; LAPIERRE, H. Effect of Postruminal Glutamine Supplementation on Immune Response and Milk Production in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v.89, n.8, p.3107-3121, 2006.
- EIGEL, W. N., BUTLER, J. E.; ERNSTROM, C. A.; FARRELL, H. M.; HARWALKAR, J. R. V. R.; JENNESS, R.; WHITNEY, R. Nomenclature of proteins of cow's milk: Fifth revision. **Journal of Dairy Science**, v.67, p.1599-1631, 1984.
- GOFF, J. P., HORST, R. L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.1260-1268, 1997.
- GONZALEZ, F. H. D.; DÜRR, J. W.; FONTANELI, R. S. **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto alegre: UFRGS, 2001. p.5-11.
- LAGO, E.P.; PIRES, A.V.; SUSIN, I.; FARIA, V.P.; LAGO, L.A. Efeito da Condição Corporal ao Parto sobre Alguns Parâmetros do Metabolismo Energético, Produção de Leite e Incidência de Doenças no Pós-Parto de Vacas Leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1544-1549, 2001.

- 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.
- MAGALHÃES, H.R.; EL FARO, L.; CARDOSO, V. Influência de fatores de ambiente sobre a contagem de células somáticas e sua relação com perdas na produção de leite de vacas da raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.2, p.415-421, 2006.
- MANSO, H. E. C. C. C.; MANSO FILHO, H.; CARVALHO, L. C.; KUTSCHENK, M.; NOGUEIRA, E. T.; WALFORD, M. Glutamine and glutamate supplementation raise milk glutamine concentrations in lactating gilts. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v.3, n.2, 2012.
- MANSO FILHO, H. C.; MCKEEVER, K. H.; GORDON, M. E.; COSTA, H. E. C.; LAGAKOS, W. S.; WATFORD, M. Changes in glutamine metabolism indicate a mild catabolic state in the transition mare. **Journal Animal Science**, v.86, p.3424-3431, 2008.
- MEDINA, G. C.; GAMAS, O. C.; GUARFIAS, U. G.; CANDIA, M. T. M.; VILLARROEL, L. M.; CANDIA, M. M.; RIVERA, A. Z. Glutamina en nutrición clínica. **Revista de Endocrinología y Nutrición.**, v.17, n.4, p.161-169, 2009.
- MEIJER, G. A. L.; MEULEN, J. V.; VUUREN, M. V. Glutamine is a potentially limiting amino acid for milk production in dairy cows: a hypothesis. **Metabolism**, v.42, n.3, p.358-364, 1993.
- MEIJER, G. A. L.; VAN DER MEULEN, J.; BAKKER, J. G. M. ; VAN DER KOELEN, C. J.; VAN VUUREN, A. M. Free Amino Acids in Plasma and Muscle of High Yielding Dairy Cows in Early Lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 78, p.1131-1141, 1995.

- MÜHIBACH, P. R. Nutrição da vaca em lactação e a qualidade do leite. **Artigos Técnicos de Pecuária de leite**, 2001. Disponível: <www.ergomix.com>; acessado: 19.11.2011.
- NEVES, J. S.; NASCIMENTO, J. E. A.; SILVA, M. H. G. G.; BICUDO, A. S.; NASCIMENTO, N.; NOCHI JUNIOR, R. Influência da glutamina na mucosa do intestino delgado de ratos submetidos à enterectomia extensa. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgia**, v.30, n.6, p.406-415, 2003.
- NEWSHOLME, P.; CURI, R.; PITHON CURI, T. C.; MURPHY, C. J.; GARCIA, C.; PIRES DE MELO, M. Glutamine metabolism by lymphocytes, macrophages, and neutrophils: its importance in health and disease. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.10, p.316-24, 1999. Diegosport-1hotm
- NEWSHOLME, P.; PROCOPIO, J.; LIMA, M. M. R.; PITHON CURI, T. C.; CURI, R. Glutamine and glutamate – their central role in cell metabolism and function. **Journal Seek entry for Cell Biochemistry and Function.**, v.21, p.1-9, 2003.
- NOVELLI, M.; STRUFALDI, M. B.; ROGERO, M. M.; ROSSI, L. Suplementação de Glutamina Aplicada à Atividade Física. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v.15, n.1, p.109-117, 2007.
- NUNES, G. R.; BLAGITZ, M. G.; FREITAS, C. B.; SOUZA, F. N.; RICCIARDI, M.; STRICAGNOLO, C. R.; SANCHES, B. G. S.; AZEVEDO, M. R.; SUCUPIRA, M. C. A.; DELLA LIBERA, A. M. M. P. **Avaliação de indicadores inflamatórios no diagnóstico da mamite ovina.** Arq. Inst. Biol., v. 75, n. 3, p. 271-278, 2008.
- ORDÓNEZ, J. A. **Tecnologia de alimentos.** Porto Alegre: Artmed, 2005, pag.35

- PADOVESE, R.; LIMA, M. R.; MARTINS, A. K. A. **Glutamina: um aminoácido “condicionalmente essencial”**. v.21, n.124, p.124-138, 2000.
- PEREIRA, A. R.; MACHADO, P. F.; BARANCELLI, G. Contagem de células somáticas e qualidade do leite. **Revista dos Criadores**, v.67, n.807, p.19-21, 1997.
- PINEL, C.; COXAM, V.; MIGNON, M.; TAILLANDIER, D.; CUBIZOLLES, C.; LEBECQUEA, P. Alterations in glutamine synthetase activity in rat skeletal muscle are associated with advanced age. **Journal of Nutrition**, v.22, p.778-85, 2006.
- PLAIZIER, J. C.; WALTON, J. P.; MCBRIDE, B. W. Effect of post-ruminal infusion of glutamine on plasma amino acids, milk yield and composition in lactating dairy cows. **Canadian Journal of Animal Science**, v.81, p.229-235, 2001.
- PRATA, L. F. **Fundamentos da Ciência do Leite**. Jaboticabal: Unesp – Editora Universitária, 2001. p.47-51.
- REEDS, P. J.; BURRIN D. G.; DAVIS, T. A.; FIOROTTO, M. L.; STOLL, B.; GOUDOEVER, J. B. V. Protein nutrition of the neonate. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.59, p.87-97, 2000.
- RENNIE, M. J.; BOWTELL, J. L.; BRUCE, M.; KHOGALI, S. E. O. Interaction between glutamine availability and metabolism of glycogen, tricarboxylic acid cycle intermediates and glutathione. **Journal of Nutrition**. v.131, p.2488S-2490S, 2001.
- RODRIGUES, M. C. V. Desenvolvimento local, turismo e lazer no agreste central de Pernambuco. Tese (Doutorado) – **Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Ciências Humanas e Sociais**. 204f. 2007.

- ROGERIO, M. M.; TIRAPEGUI, J. O. Considerações nutricionais e bioquímicas da suplementação de glutamina em atletas: controvérsias e aspectos atuais. **Journal of Nutrition and Metabolism**, v.7, p.106-17, 2003.
- ROWBOTTOM, D. G.; KEAST, D.; MORTON, A. R. The emerging role of glutamine as an indicator of exercise stress and overtraining. **Sports Medicine**, v.21, p.80-97, 1996.
- SANTOS, M. V. Contagem de células somáticas e qualidade do leite e derivados. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE LEITE, 2001, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Instituto Fernando Costa, 2001, p.115-127.
- SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para o Controle de Mastite e Melhoria da Qualidade do Leite**. Barueri: Editora Manole, 1 ed., 2006, 314p.
- SILVA, L. C. R.; FURUYA, W. M.; NATALI, M. R. M.; SCHAMBER, C. R.; LILIAN DENA DOS SANTOS, L. D.; VIDAL, L. V. O. Desempenho e morfometria intestinal de juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com dietas suplementadas com L-glutamina e L-glutamato. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.06, 2010.
- SOUZA, R.; SANTOS, G. T.; VALLOTO, A. A.; SANTOS, A. L.; GASPARINO, E.; SILVA, D. C.; SANTOS, W. B. R. Produção e qualidade do leite de vacas da raça Holandesa em função da estação do ano e ordem de parto. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.11, n.2, p.484-495, 2010.
- STUMPF, W.J.; BITTENCOURT, D.; GOMES, J.F. et al. Sistema de produção In: STUMPF, W.J.; BITTENCOURT, D.; GOMES, J.F. et al. (Eds.) **Sistemas de pecuária de leite: uma visão na região de clima temperado**. 1.ed. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2000. p.67-74.

- TEXEIRA, N. M.; FREITAS, A. F.; BARRA, R. B. Influência de fatores de meio ambiente na variação mensal da composição e contagem de células somáticas do leite em rebanhos no Estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, n.4, p.491-499, 2003.
- WATFORD, M.; KUTSCHENKO, M.; NOGUEIRA, E.T.; Optimal dietary glutamine for growth and development. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.384-390, 2011.
- WALSH, N. P.; BLANNIN, A. K.; ROBSON, P. J.; GLEESON, M. Glutamine, exercise and immune function: links and possible mechanisms. **Sports Medicine**, v.26, p.177-191, 1998.
- WU, G.; KNABE, D. A.; YAN, W.; FLYNN, N. E. Glutamine and glucose metabolism in enterocytes of the neonatal pig. **American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v.268, n.2, p.R334-R342. 1995.
- ZAVARIZE, K. C.; MENTEN, J. F. N.; TRALDI, A. B.; SANTAROSA, J.; SILVA, C. L. S. Utilização de glutamina na nutrição de monogástricos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.109, n.573-576, p.5-10, 2010.
- ZIEGLER, T. R.; BAZARGAN, N.; LEADER, L. M.; MARTINDALE, R. Glutamine and the gastrointestinal tract. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v.3, p.355-362, 2000.

ANEXO I

Índice de escore corporal para vacas leiteiras (LAGO et al. 2001)

