UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

THAYSA DOS SANTOS SILVA

Avaliação do balanço cátion-aniônico dietético (BCAD) para búfalas em lactação

Pirassununga
2015

THAYSA DOS SANTOS SILVA

Avaliação do balanço cátion-aniônico dietético (BCAD) para búfalas em lactação
“Versão corrigida”

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutora em Ciências.

Área de Concentração:
Qualidade e Produtividade Animal

Orientador:
Prof. Dr. Raul Franzolin Neto

Pirassununga
2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Serviço de Biblioteca e Informação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos
da Universidade de São Paulo

Silva, Thaysa dos Santos
S586a Avaliação do balanço cátion-aniônico dietético (BCAD)
para búfalas em lactação / Thaysa dos
Santos Silva. -- Pirassununga, 2015.
163f.
Tese (Doutorado) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo.
Departamento de Zootecnia.
Área de Concentração: Qualidade e Produtividade
Animal.
Orientador: Prof. Dr. Raul Franzolin Neto.

1. Búfalo 2. Curva da lactação 3. Dieta catiôn-
aniônica 4. Minerais 5. Nutrição. I. Título.

DEDICATÓRIA

À minha família e aos meus amigos, com amor, admiração e gratidão por sua dedicação, compreensão, carinho, presença e apoio ao longo dos meus estudos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que me concedeu a oportunidade de viver com saúde e inteligência. Aos meus queridos pais, que me deram a vida e me ensinaram a vivê-la com amor e dignidade. Que me ajudaram com sua dedicação, força e luta nos momentos mais difíceis e por fornecer as condições necessárias para que eu pudesse estudar. À minha irmã, ao meu cunhado, aos meus sobrinhos, a minha avó, aos meus tios pelo incentivo e carinho. Ao meu namorado pelo carinho, companheirismo, paciência e dedicação.

Agradeço aos meus parentes pelo carinho, confiança e acolhimento, e ao meu tio Walter Celestino da Silva, sem os quais meus ideais ficariam pela metade. Agradeço aos meus estimados amigos Vera Lúcia Dias da Silva Fontana, Cássio Aparecido Pereira Fontana, Duperron de Alencar Carvalho, Lucas Arantes Pereira, Volnei Brito, Adja Medeiros, Tiara Gomes, Guilherme Salamanca Grosso, José Raúl Lopes Álvarez, Luiz Margutti Neto, José Francisco Malachias Ferreira, Graziela Veiga e Flávia Vargas pela amizade, ensino e auxílio para comigo.

Ao Prof. Dr. Raul Franzolin Neto pelos ensinamentos, paciência, orientação, confiança e amizade. Aos professores Dr. Ives Cláudio da Silva Bueno, Dr. Arlindo Saran Netto, Dr. César Gonçalves de Lima e a Dr^a. Catariana Abdala Gomide, pelas contribuições nos experimentos, análises e ensinamentos.

À todas as pessoas que direta ou indiretamente colaboraram para a realização desse trabalho, como os estagiários Juan Camilo Navarro, Hiago Pavret Osses e Isabella Strozzi e a Msc. Andrea Vásquez García pela dedicação e auxílio nos experimentos e análises. Aos proprietários e funcionários das fazendas que permitiram a realização dos experimentos, sem os quais o meu trabalho seria impossível.

Aos funcionários do setor de Bubalinocultura da Prefeitura do Campus da USP de Pirassununga, Edgar Pavão e José Antônio Cuel, pelo auxílio e disposição durante todo o período experimental e as técnicas de laboratório Priscila Sales Maldonado e Dr^a Roseli Sengling Lacerda e o técnico Marcos Ferraz pelo auxílio e contribuições nas análises laboratoriais, assim como ao pesquisador científico Dr. Marcelo Antônio Morgano do Instituto de Tecnológico de Alimentos (ITAL) pela colaboração na realização das análises de minerais.

Agradeço também a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de estudos (Processo 2011/19562-3) que foi fundamental para a realização de meu programa de doutorado.

RESUMO

SILVA, T.S. **Avaliação do balanço cátion-aniônico dietético (BCAD) para búfalas em lactação.** 2015. 163f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.

Este trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos do uso de dietas com diferentes balanço cátion-aniônico dietético (BCAD) na produção e na qualidade do leite de búfala, nas características fermentativas através da técnica de produção de gás *in vitro*, além de traçar perfil nutricional de búfalas em lactação em propriedades de bubalinocultura da região central do Estado de São Paulo. Dessa forma, a tese está apresentada na forma de 11 capítulos, sendo que os capítulos 1, 2 e 11 descrevem a introdução, revisão de literatura e considerações finais, respectivamente. Os demais descrevem diferentes experimentos realizados sob a temática geral de 2012 a 2014. O capítulo 3 contém a avaliação de quatro dietas catiônicas com alto BCAD (+362, +370, +379 e +390 mEq/kg/MS) formuladas conforme rendimento do queijo muçarela para 350 búfalas, divididas em dois grupos (búfalas com menos e acima de 100 dias de lactação no início do experimento) durante período experimental de 120 dias. Dez tratamentos foram designados adotando-se diferentes formas de sistema de alimentação durante todo o experimento. A covarível idade não influenciou na produção e qualidade do leite das búfalas, exceto na contagem de células somáticas (CCS) e condutividade elétrica nas búfalas ≤ 100 dias de lactação. Houve diferenças significativas entre os tratamentos para a produção de leite diária em ambos os grupos de búfalas. Somente a lactose apresentou diferenças entre os tratamentos em búfalas no início da lactação. A forma do sistema de alimentação com alteração das dietas contendo diferentes BCAD a cada 30 dias não produz efeitos na produção e qualidade do leite em búfalas no estágio inicial da lactação, porém aumenta a produção de leite em búfalas acima de 100 dias de lactação. No capítulo 4 a produção diária e a qualidade do leite foram avaliadas em 297 búfalas, divididas em dois grupos, um com menos de 100 e outro de 100 a 220 dias de lactação recebendo duas dietas catiônicas com baixo BCAD: D121 (+121 mEq/kg/MS) e D164 (+164 mEq/kg/MS) em dois sistemas de alimentação, definindo quatro tratamentos. O BCAD influenciou na produção de leite das búfalas, entretanto, o menor BCAD produziu melhoria na produção de leite. O BCAD mais elevado promoveu aumentos nos teores de proteína, sólidos totais (ST), extrato seco desengordurado (ESD) e CCS nas búfalas de 100 a 200 dias de lactação. No capítulo 5 quatro dietas aniônicas com BCAD de -61, -67, -73 e -100 mEq/kg/MS foram avaliadas em 259 búfalas, divididas em dois grupos, com 100 a 200 dias e acima de 200 dias de lactação. O BCAD negativo não interferiu na produção de leite diária e na qualidade do leite das búfalas, porém, influenciou no teor de gordura e lactose do leite em ambos os grupos de lactação e ainda nos teores de proteína, sólidos totais e CSS nas búfalas acima de 200 dias de lactação. No capítulo 6, foram avaliados três níveis crescentes de BCAD de +40, +120 e +190 mEq/kg/MS na produção, qualidade e minerais no leite de búfalas, não observando alterações significantes na produção, qualidade e minerais no leite de búfala, exceto na condutividade elétrica, acidez titulável e nos teores de Na e Cl. No capítulo 7 realizou-se a caracterização da produção, qualidade e minerais do leite na curva de lactação de búfalas em dietas catiônicas com baixo BCAD. Os dados mostraram que a curva da lactação iniciou-se ascendente, com pico no 2º. e 3º. mês e posterior declínio com maior produção de leite nos primeiros 90 dias da lactação (40%). As búfalas paridas no segundo semestre apresentaram média diária de produção de leite ao longo da lactação superior que as paridas no primeiro semestre com a qualidade do leite semelhante em ambas os grupos. Os teores de gordura, proteína, ST e ESD ao longo da lactação aumentaram no leite e depois se mantiveram constantes, enquanto que a lactose diminuiu e a CCS não se alterou ao longo do experimento.

Os níveis de macrominerais no leite de búfala foram constantes durante a lactação, exceto o cloro que sofreu queda. O Ca e o K apresentaram-se em maior concentração. No capítulo 8 é descrita a caracterização da produção acumulada e diária do leite de búfala na curva de lactação em função da duração da lactação, número da lactação e faixa etária dos animais, recebendo dieta com BCAD médio de +83 mEq/kg/MS. A curva da lactação em búfalas caracterizou-se pelo crescimento da produção de leite até os primeiros 90 dias, seguida de um declínio gradativo até o final da lactação, não existindo influência da duração da lactação, número da lactação e da faixa etária dos animais. Foram identificadas quatro fases com diferentes níveis de queda mensal de produção em relação ao mês anterior (aumento; leve, médio e forte declínios). Búfalas mais velhas acima de 11 anos de idade apresentam declínio mais acentuado que búfalas mais jovens. No início da lactação até 90 dias, búfalas com maior número de lactações e faixa etária produziram mais leite que as mais jovens. No capítulo 9 compararam-se dietas com BCAD de +110, +220 e +440 mEq/kg/MS na cinética de fermentação ruminal, por meio de parâmetros da produção de gases totais e metano, degradabilidade da matéria seca e orgânica e produção de ácidos graxos de cadeia curta e nitrogênio amoniacal em 24 e 96 horas de inoculação, com a técnica de produção de gases *in vitro*, usando inóculo de conteúdo ruminal de bubalinos. Não foram observadas diferenças entre os tratamentos em qualquer variável avaliada. As ausências de efeitos sugerem ações outras do BCAD sobre o metabolismo animal do que sobre o metabolismo ruminal na produção de efeitos sobre o desempenho produtivo dos animais. Concluindo esses estudos, o capítulo 10 descreve a avaliação do sistema de exploração de leite de búfalas de quatro propriedades rurais, compreendendo um total de 794 búfalas, com caracterização da composição de 11 tipos de dietas e composição químico-bromatológica de ingredientes das dietas utilizadas. As búfalas apresentaram ingestão de matéria seca média diária de 17,8 kg por animal (2,6% do peso vivo e 91 g MS/kg^{0,75}) e produção de leite média de 8,1 kg/animal/dia com conversão alimentar de 2,2 kg de MS por kg de leite produzido/animal/dia.

Palavras-chave: búfalo; curva da lactação; dieta cátion-aniônica; minerais; nutrição

ABSTRACT

SILVA, T. S. **Evaluation of dietary cation-anion difference (DCAD) for lactating buffalo.** 2015. 163f. Thesis (Ph.D.) - Faculty of Animal Science and Food Engineering, University of São Paulo, Pirassununga, 2015.

This study aimed to evaluate the effects of feeding diets with different dietary cation-anion difference (DCAD) in the production and quality of buffalo milk, in the fermentation characteristics by in vitro gas production technique, and in addition to showing nutritional profile lactating buffalo on farms located in the central region of São Paulo state, Brazil. Thus, this thesis is presented in the form of eleven sections, where the Chapters 1, 2 and 11 describe the introduction, literature review, and final considerations, respectively. The others describe different experiments performed under the general theme from 2012 to 2014. The Chapter 3 contains the evaluation of four cationic diets with high DCAD (+362, +370, +379 and +390 mEq / kg / MS) formulated as mozzarella cheese yield basis in 350 buffaloes, divided into two groups (buffaloes less and above 100 days of lactation at beginning of the experiment) during the experimental period of 120 days. Ten treatments were assigned adopting different ways feeding system throughout the experiment. The covariate age did not influence the production and quality of milk, except in somatic cell counting (SCC) and electrical conductivity in buffaloes ≤ 100 days of lactation. Significant differences were observed between treatments for daily milk production in both groups buffaloes. Only lactose has differed between treatments in buffaloes in early lactation. The feeding system with changing diets containing different DCAD every 30 days has no effect on production and quality of milk in buffalo in the early stage of lactation, but it increases milk production in buffalo over 100 days of lactation. In chapter 4, the daily production and milk quality were evaluated in 297 buffaloes, divided into two groups, one with less than 100 and another 100-220 days of lactation receiving two cationic diets with low DCAD: D121 (+121 mEq / kg / DM) and D164 (+164 meq / Kg / MS) to two feeding systems, defining four treatments. DCAD has influenced the milk production of buffaloes. Lower DCAD has produced higher milk production. The highest DCAD has promoted increases in protein, total solids (TS), solid no fat (SNF) and SCC in buffaloes with 100-200 days of lactation. In Chapter 5, four anionic diets with DCAD of -61, -67, -73 and -100 mEq / kg / DM were evaluated in 259 buffaloes, divided into two groups: between 100 - 200 days and over 200 days of lactation. The negative DCAD has not interfered in daily milk production and milk quality in buffaloes, however, has influenced the fat and lactose contents of milk in buffalo in both groups of lactation and also in protein levels, and total solid and SCC of buffalo over 200 days of lactation. In Chapter 6, were evaluated three increasing levels of DCAD: +40, +120 and +190 mEq / kg / DM in production, quality and minerals in buffalo milk. No significant differences were observed in production, quality and minerals in buffalo milk except in electrical conductivity, acidity and levels of Na and Cl. In Chapter 7, the characterization of production, quality and minerals of milk along the lactation curve were evaluated in buffaloes on cationic diets with low DCAD. The data showed that the lactation curve started rising, peaking on the 2nd. and 3rd. month and subsequent decline with higher milk production in the first 90 days of lactation (40%). The calved buffaloes in the second half of the year had higher average daily milk production along the lactation than that calved in the first half with the quality of milk similar in both groups. The fat, protein, TS and SNF increased in milk throughout the lactation and, then remained constant, while lactose decreased and the SCC did not change. The buffalo milk macrominerals have maintained the same levels along lactation, except chlorine that dropped. Ca and K showed up in higher concentration. In Chapter 8 describes the characterization of accumulated and daily production of buffalo milk during lactation curve as a function of

lactation period, number of lactation and age of the animals fed diet with medium DCAD of +83 mEq/kg/DM. The lactation curve in buffaloes characterized by the growth of milk production until the first 90 days, followed by a gradual decline until the end of lactation, with no influence of lactation period, lactation number and age of the animals. Four phases have been identified with different monthly decline levels of production compared to the previous month (increase; slight, medium and, strong declines). Older buffaloes above 11 years of age had steeper decline than younger buffaloes. In early lactation up to 90 days, buffaloes with more lactations and age have produced more milk than younger. In Chapter 9, three diets of DCAD +110, +220 and +440 mEq/kg DM were evaluated by ruminal fermentation kinetics, involving total production and methane gases, degradability of dry matter and organic matter and fatty acids of short chain and ammonia nitrogen productions in 24 and 96 hours of inoculation, by using in vitro gas production technique with inoculum of rumen contents of buffalo. No differences were observed between treatments. No observed effects suggest other actions of DCAD on animal metabolism than on ruminal metabolism in producing productive performance of the animals. Completing these studies, Chapter 10 describes the evaluation of buffalo milk operating system of four rural properties, comprising a total of 794 buffaloes, with characterization of the composition of 11 types of diets and chemical composition of the diet ingredients used. The buffaloes had dry matter intake daily average of 17.8 kg per animal (2.6% of body weight and 91 g DM / kg0.75) and average milk production of 8.1 kg / animal / day with feed conversion 2.2 kg of dry matter per kg of produced milk / animal / day.

Keywords: buffalo; cation-anionic diet; lactation curve; minerals; nutrition

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Produção de leite de búfalas observada por diferentes pesquisadores no Brasil.	25
Tabela 2.2 – Composições físico-químicas do leite de vaca e de búfala por diferentes pesquisadores.....	26
Tabela 2.3 – Densidade, acidez e pH do leite de búfalas observados por diferentes autores...	27
Tabela 2.4 – Composição físico-química do leite de búfala obtida por pesquisadores no mundo	27
Tabela 2.5 – Níveis de minerais no leite de búfala observados por diferentes pesquisadores .	28
Tabela 2.6 – Contagem de Células Somáticas em leite de búfalas observado por diferentes pesquisadores.....	30
Tabela 2.7 – Observações dos efeitos do aumento do balanço cátion-aniônico dietéticos (BCAD) com os componentes sanguíneos em diferentes espécies de animais, obtidas por pesquisadores.....	39
Tabela 3.1 – Composição das dietas experimentais para búfalas em lactação, BCAD e divisão das dietas por rendimento de muçarela.....	61
Tabela 3.2 – Tratamentos e número de búfalas nos dois grupos de animais de acordo com o estágio da lactação no início do experimento	62
Tabela 3.3 – Produção média diária de leite das búfalas com menos ou igual a 100 dias e acima de 100 dias de lactação conforme os diferentes tratamentos	64
Tabela 3.4 – Teores de gordura, proteína, lactose e sólidos totais (ST) do leite das búfalas com menos ou igual a 100 dias de lactação no início do experimento conforme os diferentes tratamentos	67
Tabela 3.5 – Valores de pH, acidez titulável e condutividades elétrica do leite das búfalas com menos ou igual a 100 dias de lactação conforme os diferentes tratamentos	69
Tabela 4.1 – Produção média diária de leite das búfalas com menos de 100 dias e de 100 a 200 dias de lactação conforme os diferentes tratamentos.....	78
Tabela 4.2 – Teores de gordura, proteína e lactose do leite das búfalas com menos de 100 dias e de 100 a 200 dias de lactação conforme os diferentes tratamentos.....	80
Tabela 4.3 – Teores de sólidos totais (ST), extrato seco desengordurado (ESD) e contagem de células somáticas (CCS) no leite de búfalas com menos de 100 dias e de 100 a 220 dias de lactação conforme os diferentes tratamentos.....	82
Tabela 5.1 – Composição das dietas de cada tratamento e número de animais por tratamento com 100 a 200 dias e acima de 200 dias de lactação.....	90

Tabela 5.2 – Produção média diária do leite das búfalas com 100 a 200 e >200 dias de lactação conforme os diferentes tratamentos	92
Tabela 5.3 – Teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais, extrato seco desengordurado e contagem de células somáticas no leite das búfalas de 100 a 200 dias de lactação conforme os diferentes tratamentos	93
Tabela 5.4 – Teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais, extrato seco desengordurado e contagem de células somáticas no leite das búfalas >200 dias de lactação conforme os diferentes tratamentos.....	93
Tabela 6.1 – Produção média de leite obtida das búfalas conforme as dietas com níveis crescentes de BCAD nas doze semanas avaliadas.....	103
Tabela 6.2 – Composição e características físico-químicas do leite de búfala com dietas com níveis crescentes de BCAD positivo	105
Tabela 6.3 – Composição e características físico-químicas do leite de búfala ao longo do período experimental (2 ^a , 6 ^a . e 12 ^a . semanas).....	107
Tabela 7.1 – Produção acumulada e diária do leite das búfalas do rebanho total e das paridas no 1 ^o e 2 ^o semestre nos períodos ≤90, 91 a 180, 181 a 270 e 271 a 365 dias de lactação.....	116
Tabela 7.2 – Produção média diária mensal de leite de búfala do rebanho total e das búfalas paridas no 1 ^o e 2 ^o semestre.....	118
Tabela 7.3 – Teores de gordura, lactose, proteína, ST, ESD e CCS do leite das búfalas do rebanho total e das búfalas paridas no 1 ^o e 2 ^o semestres com 90, 180 e 270 dias da lactação	120
Tabela 8.1 – Critérios de classificação com número de búfalas (duração da lactação, número da lactação e faixa etária das búfalas)	131
Tabela 8.2 – Produção acumulada e diária média do leite das búfalas nos períodos ≤90, 91 a 180, 181 a 270 e 271 a 365 dias de lactação em função da duração da lactação (≤240 dias, 241 a 270 dias, 271 a 300 dias e 301 a 365 dias)	132
Tabela 8.3 – Produção média diária de leite de búfalas ao longo da lactação (mensal) em função da duração da lactação	133
Tabela 8.4 – Produção acumulada e diária média do leite das búfalas nos períodos ≤90, 91 a 180, 181 a 270 e 271 a 365 dias de lactação em função do número da lactação (1 ^a a 3 ^a , 4 ^a a 6 ^a e ≥7 ^a lactação).....	134
Tabela 8.5 – Produção média diária mensal de leite das búfalas com diferentes números de lactação e em diferentes idades	135

Tabela 8.6 – Produções acumulada e diária média do leite das búfalas nos períodos ≤ 90 , 91 a 180, 181 a 270 e 271 a 365 dias de lactação em função da faixa etária (3 a 6, 7 a 10 e ≥ 11 anos)	137
Tabela 9.1 – Composição bromatológica dos ingredientes da ração basal e estimativas dos nutrientes digestíveis totais (NDT).....	142
Tabela 9.2 – Cinética da degradabilidade <i>in vitro</i> e produções de gases e de metano em rações com diferentes BCAD	144
Tabela 9.3 – Degradabilidade da matéria seca e da matéria original estimados nos tempos 24 e 96 horas após a incubação	145
Tabela 9.4 – Produções <i>in vitro</i> total e individual de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e de nitrogênio amoniacal (N-NH ₃) em 24 e 96 h de incubação de rações catiônicas com diferentes BCAD	146
Tabela 10.1 – Composições das dietas, proporção volumoso e de concentrado, IMS e produção média de leite das búfalas nas propriedades da região central do estado de São Paulo, Brasil em 2013.....	155
Tabela 10.2 – Composição química-bromatológica (% na MS) de capins, resíduo de cervejaria e cana-de-açúcar utilizados em dietas para búfalas em lactação criadas na região central do Estado de São Paulo	156
Tabela 10.3 – Composição química-bromatológica (% na MS) de silagens, polpa cítrica e concentrados utilizados em dietas para búfalas em lactação criadas na região central do Estado de São Paulo	157
Tabela 10.4 – Análises dos minerais Potássio, Enxofre, Cálcio, Magnésio, Cloro e Sódio dos alimentos consumidos pelas búfalas nas quatro propriedades particulares da Região Central de São Paulo	159

LISTA DE FIGURAS

Figura 7.1 – Curva da lactação do rebanho total de búfalas com os valores médios, mínimos e máximos.	119
Figura 7.2 – Desempenho da curva de lactação de búfalas (porcentagem de produção de leite em relação ao mês anterior).....	119
Figura 9.1 – Perfil da cinética de fermentação <i>in vitro</i> dos três inóculos em cada tratamento (T110, T220 e T440)	145

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
BCAD	Balanço cátion-aniônico da dieta
BCA	Balaço cátion-aniônico
BE	Balanço eletrolítico
BID	Balanço iônico da dieta
Ca^{2+}	Cálcio
CCS	Contagem de células somáticas
Cl	Cloro
Cl^-	Cloreto
CH_4	Metano
CO_2	Dióxido de carbono
DCAD	Diferença cátion-aniônica da dieta
DMO	Degradabilidade da matéria orgânica
DMS	Degradabilidade da matéria seca
EE	Extrato etéreo
ESD	Extrato seco desengordurado
FDA	Fibra em detergente neutro
FDN	Fibra em detergente Neutro
H^+	Íon hidrogênio
HCO_3^-	Bicarbonato
IMS	Ingestão de matéria seca
K^+	Potássio
mEq	Miliequivalente
MM	Matéria mineral
MS	Matéria seca
Na^+	Sódio
NaCl	Cloreto de Sódio
NaHCO_3	Bicarbonato de sódio
NDT	Nutrientes digestíveis totais
N-NH_3	Nitrogênio amoniacal
PB	Proteína bruta

pCO ₂	Pressão de dióxido de carbono
PG	Produção de gases
S ⁻	Enxofre
SO ₄ ⁻²	Sulfato
ST	Sólidos totais

SUMÁRIO

Capítulo 1	Introdução	20
1.1	Hipótese	21
1.2	Objetivos.....	21
1.2.1	Geral	21
1.2.2	Específicos.....	21
Capítulo 2	Revisão de Literatura	24
2.1	Leite de búfala.....	24
2.1.1	Produção do leite de búfala	24
2.1.2	Características físico-químicas do leite de búfala	25
2.1.3	Características microbiológicas do leite de búfala	28
2.2	Balanço cátion-aniônico da dieta (BCAD) e sua ação no metabolismo animal	32
2.2.1	BCAD no metabolismo ruminal e no desempenho animal	40
2.2.2	BCAD na produção de leite.....	43
	Referências	47
Capítulo 3	Dietas catiônicas com alto balanço cátion-aniônico dietético (BCAD) em diferentes formas de alimentação para búfalas em lactação	60
3.1	Introdução	60
3.2	Material e Métodos.....	61
3.3	Resultados e Discussão	64
3.4	Conclusão	69
	Referências	70
Capítulo 4	Avaliação de dietas catiônicas com baixo balanço cátion-aniônico dietético (BCAD) na produção e qualidade do leite de búfala.....	74
4.1	Introdução	74
4.2	Material e Métodos.....	75
4.3	Resultados e Discussão	77
4.4	Conclusão	83
	Referências	84
Capítulo 5	Avaliação de dietas aniônicas na produção e qualidade do leite de búfalas no meio e final da lactação	88
5.1	Introdução	88
5.2	Material e Métodos.....	89
5.3	Resultados e Discussão	91
5.4	Conclusão	94
	Referências	95
Capítulo 6	Efeitos de níveis crescentes de dietas catiônicas na produção, qualidade e minerais no leite de búfala	100
6.1	Introdução	100
6.2	Material e Métodos.....	100
6.3	Resultados e Discussão	102
6.4	Conclusão	108

Referências	108
Capítulo 7 Caracterização da produção, qualidade e minerais do leite na curva de lactação de búfalas em dietas catiônicas com baixo balanço cátion-aniônico dietético (BCAD) 113	
7.1 Introdução	113
7.2 Material e Métodos	114
7.3 Resultados e Discussão	116
7.4 Conclusão	123
Referências	123
Capítulo 8 Caracterização da curva de lactação em função da duração e número da lactação e da faixa etária de búfalas recebendo dietas catiônicas com baixo balanço cátion-aniônico dietético (BCAD)	129
8.1 Introdução	129
8.2 Material e Métodos	129
8.3 Resultados e Discussão	131
8.4 Conclusão	137
Referências	137
Capítulo 9 Avaliação <i>in vitro</i> de rações com níveis crescentes de balanço cátion-aniônico dietético (BCAD) positivo na produção de gases, metano e cinética da degradabilidade com inóculo de conteúdo ruminal de bubalinos	141
9.1 Introdução	141
9.2 Material e Métodos	141
9.3 Resultados e Discussão	143
9.4 Conclusões	148
Referências	148
Capítulo 10 Caracterização nutricional de dietas utilizadas para búfalas em lactação na região central do Estado de São Paulo	152
10.1 Introdução	152
10.2 Material e Métodos	152
10.3 Resultados e Discussão	155
10.4 Conclusão	159
Referências	160
Capítulo 11 Considerações finais	163

CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO

A bubalinocultura é uma atividade de grande importância na produção animal que vem crescendo pela facilidade de adaptação dos animais às condições ambientais, à docilidade, à rusticidade e à alta qualidade do leite (alto teor de sólidos totais, como a gordura, proteína e os minerais, o que proporciona rendimento industrial elevado).

As necessidades nutricionais das búfalas leiteiras e os padrões de alimentação apropriados para esta categoria não são claramente definidos. Um exemplo disso é a carência de informações sobre o metabolismo mineral em bubalinos. Os minerais são importantes fatores a serem considerados no bom desempenho produtivo dos animais, principalmente em função do seu balanceamento na dieta a fim de atender corretamente as reações químicas metabólicas dos animais.

Em nutrição animal, o estudo do balanço cátion-aniônico dietético (BCAD), também conhecido como diferença cátion-aniônica da dieta (DCAD), balanço eletrolítico (BE) ou balanço iônico da dieta (BID) (STEWART, 1978 apud BLOCK, 1994), caracterizado como a diferença entre os cátions e os ânions presentes na dieta teve início com a avicultura de corte, devido à constatação de que os minerais devem ser ajustados na dieta, não somente em relação aos níveis de exigências, mas também pelo balanço cátion-aniônico, que é de suma importância para um ótimo desempenho animal.

Os níveis de minerais importantes na nutrição dos ruminantes devem ser avaliados, bem como os seus efeitos no equilíbrio ácido-básico do animal. Sendo assim, pesquisas que forneçam essas informações são importantes para a realização de um manejo nutricional adequado, principalmente quanto ao fornecimento de dietas ideais ou alternativas para maior produtividade da espécie bubalina.

O BCAD exerce vários efeitos sobre o metabolismo animal, principalmente na regulação do equilíbrio ácido-base (bomba de Na^+ e K^+). Entretanto, atua também na manutenção da integridade osmótica em reações enzimáticas, na condução de impulsos nervosos e influencia o desempenho lactacional (BLOCK, 1994). Dessa forma, estudos têm sido realizados sobre BCAD em bovinos leiteiros, mas infelizmente são raros com a espécie bubalina.

Vacas leiteiras com dieta contendo BCAD positivo (dieta altamente catiônica) mostraram aumentos na ingestão de matéria seca (IMS), produção de leite e alteraram a composição do leite com aumentos nos teores de gordura e proteína. Entretanto, resultados

de pesquisas têm sido bastante divergentes, reforçando a necessidade de haver maiores estudos na área.

Dessa forma, a presente tese de doutorado apresenta uma série de estudos relacionados com os efeitos de BCAD em búfalas em lactação envolvendo a produção e qualidade do leite de animais em sistema comercial de produção de leite em propriedades rurais da região central do Estado de São Paulo, e avaliação usando a técnica de produção de gás *in vitro*.

1.1 Hipótese

O BCAD exerce principalmente influencia no equilíbrio ácido-base sanguíneo de búfalas, podendo afetar o desempenho dos animais, através do crescimento, ganho de peso e na lactação. Búfalas recebendo dietas com diferentes BCAD podem alterar a produção de leite e influenciar na composição e aspectos físicos do leite.

1.2 Objetivos

1.2.1 Geral

Avaliar os efeitos de uso de dietas com diferentes balanços cátions-aniônicos (BCAD) na produção e na qualidade do leite de búfala à campo, bem como por meio da técnica de produção de gás *in vitro*, além de traçar perfil nutricional, de produção e qualidade do leite de búfala em propriedades da região central de São Paulo.

1.2.2 Específicos

- a) Avaliar a influência do balanço cátion-aniônico dietético (BCAD) na produção de leite.
- b) Avaliar a influência do balanço cátion-aniônico dietético (BCAD) na composição físico-química do leite realizando as seguintes análises: acidez titulável, pH, condutividade elétrica, gordura, lactose, proteína, sólidos totais (ST), extrato seco desengordurado (ESD) e minerais (Na, K, Ca, Cl, S e Mg).
- c) Influência do balanço cátion-aniônico dietético (BCAD) em relação com a microbiologia do leite realizando a contagem de células somáticas (CCS).

- d) Avaliar dois períodos de lactação ao longo do ano (búfalas paridas no primeiro e no segundo semestre).
- e) Avaliar a composição química-bromatológica de dietas (concentrado e volumoso) e sistemas de alimentação de bubalinos em produção comercial de leite.
- f) Influência de dietas catiônicas sobre a produção de gases e de metano, ácidos graxos de cadeia curta, nitrogênio amoniacal e degradabilidade com o uso da técnica de produção de gás *in vitro*.

CAPÍTULO 2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Leite de búfala

2.1.1 Produção do leite de búfala

A produção mundial de leite de búfala *in natura* vem aumentando, passando de ao redor de 66,5 milhões de toneladas em 2000 para 80,1 milhões de toneladas em 2013 (FAO, 2015). Assim, a produção de leite de búfalas retrata uma atividade rural de grande importância em muitos países do mundo, com destaque nas Américas para o Brasil (JORGE; GOMES; HALT, 2002).

Em torno de 30% da bubalinocultura no Brasil é voltada especificamente para produção leiteira (ABCB, 2011). Segundo Bernardes (2007) nas regiões em que os criadores organizaram cadeias agroindustriais de derivados lácteos, a expansão das criações de búfalos tem sido expressiva, e sua exploração vem se revelando uma alternativa relevante não só nos casos de propriedades de melhor nível tecnológico, como também em pequenas explorações, representando, assim, um importante fator de elevação da renda média e fixação do homem no campo.

No Brasil, praticamente não há o consumo do leite *in natura* de búfala e sim de seus derivados, principalmente o queijo muçarela. Segundo Teixeira, Bastianetto e Oliveira (2005), e Jana e Mandal (2011), a muçarela é preparada com leite de búfala integral, sendo um queijo suave e não maturado, de massa filada, com alto teor de gordura, sendo de origem italiana (sul da Itália região de Campana no século XI).

Além da muçarela, outros produtos podem ser produzidos a partir do leite de búfala, tais como: o queijo provolone, a ricota, o queijo minas frescal, o iogurte, o requeijão, o doce de leite, a manteiga e o iogurte.

A média de produção de leite das búfalas tem variado muito em função de uma série de fatores, tais com: genéticos, estágio de lactação e período do ano (DUBEY et al., 1997), raça, nutrição e alimentação, número diário de ordenhas, manejo, entre outros (AKBAR et al., 1999). Valores médios têm sido observados de 3,20 a 8,49 kg/dia/animal, representando uma produção durante a lactação entre 748 a 3.100 kg em período de 270 dias de lactação (Tabela 2.1). A curva de lactação das búfalas se inicia com uma fase ascendente até o pico (sexta semana) e posterior declínio gradual (CASTILHO et al., 2002).

Tabela 2.1 – Produção de leite de búfalas observada por diferentes pesquisadores no Brasil

Pesquisadores	Local	Raça	Produção de leite diária (kg/dia)	Produção durante a lactação em kg (270 dias)
Macedo et al. (2001)	SP	Murrah	4,52	1.220
Jorge et al. (2005)	SP	Murrah	4,07 ± 1,30	748 - 1.450
Lamontagna e Franzolin (2009)	SP	Mediterrâneo	5,00	-
Damé et al. (2011)	RS	Murrah e Mediterrâneo	3,20 - 6,90	864 - 1.863
Rangel et al. (2011)	RN	Murrah	8,19 - 8,49	3.100

SP = São Paulo; RS = Rio Grande do Sul; RN = Rio Grande do Norte.

Um dos principais fatores fisiológicos relacionados com as variações na produção e composição físico-químicas do leite de búfala é o estágio da lactação. Estas variações ocorrem em proporções muito maiores do que se observa em bovinos, com os teores de proteína, gordura e sólidos totais aumentando à medida que se avança o período de lactação (NADER FILHO et al., 1996; FARIA et al., 2002; CERÓN-MUÑOZ et al., 2002; CAMPANILE et al., 2007).

2.1.2 Características físico-químicas do leite de búfala

Segundo Fonseca e Santos (2001) no processo de formação do leite, os nutrientes provenientes da dieta, proteínas, carboidratos, gorduras, sais minerais, vitaminas e água são absorvidos da corrente sanguínea pelas células de secreção do alvéolo (responsável pela síntese e escoamento do leite) da glândula mamária, produzindo o leite que é um produto de grande importância na alimentação humana e animal rico em nutrientes, tais como gordura, proteína, lactose, minerais e vitaminas e outros componentes.

O leite de búfala apresenta características peculiares que permitem sua fácil identificação sob o ponto de vista físico-químico e organoléptico (FAO, 1991). Quando comparado ao de vaca, apresenta menor teor de umidade (83,00%) versus (88,00%) e maiores teores de gordura, proteína, o EST, a vitamina A, e os minerais (Tabela 2.2). De acordo com Fonseca (1987), pela ausência quase total do caroteno (pró-vitamina A), em sua gordura, a manteiga e queijos são brancos e não amarelados comumente se observa em leite de vaca.

A lactose é o componente que menos sofre variações comparativamente entre o leite de búfala e de vaca (SUTTON, 1996). Não há dúvidas de que o leite de búfalas, e consequentemente, seus derivados, exibam elevada qualidade (JORGE; GOMES; HALT, 2002; ANDRIGHETTO, 2011). Este leite é cerca de 40-50% mais rentável na produção de derivados que o leite bovino. (TEIXEIRA; BASTIANETTO; OLIVEIRA, 2005; AMARAL; ESCRIVÃO, 2005).

Tabela 2.2 – Composições físico-químicas do leite de vaca e de búfala por diferentes pesquisadores

Composição	Pesquisadores							
	Verruma e Salgado (1994)		Ahmad et al. (2008)		Medhammar et al. (2012)		Hussain et al. (2012)	
	Vaca	Búfala	Vaca	Búfala	Vaca	Búfala	Vaca	Búfala
Umidade (%)	88,00	83,00	ND	ND	88,10	83,20	ND	ND
Gordura (%)	3,68	8,16	4,10	7,00	3,30	7,40	4,08	8,27
Proteína (%)	3,70	4,50	ND	ND	3,10-3,30	2,70-4,60	3,29	4,76
Lactose (%)	ND	ND	4,80	5,41	5,10	4,40	4,50	4,80
Cinzas (%)	0,70	0,70	0,77	0,84	0,70	0,80	0,68	0,72
ESD (%)	12,00	17,00	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Vitamina A (UI)	185,50	204,30	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Calorias/100 ml	62,83	104,30	ND	ND	ND	ND	62,92	98,56

ESD = Extrato Seco Desengordurado; ND = Não determinado.

É importante destacar que não existe legislação federal específica para leite de búfala, para determinar o padrão de identidade e qualidade do mesmo. Até o momento somente o Estado de São Paulo possui legislação para definir alguns parâmetros de identidade e qualidade do leite de búfala, estabelecendo valores mínimos para gordura de 4,5%, acidez de 14 a 23°D, pH entre 6,4 e 6,87, extrato seco desengordurado (ESD) mínimo de 8,57%, densidade a 15°C de 1,028 a 1,034 e índice crioscópico entre 0,52 e 0,57. Entretanto, não é feita referência para outros constituintes, como a proteína, lactose e sólidos totais (SÃO PAULO, 1994). Estes parâmetros sugeridos pela legislação de São Paulo estão de acordo com valores observados por diferentes pesquisadores quanto a densidade, acidez e pH no leite de búfala (Tabela 2.3).

Observando a Tabela 2.4 notamos que a proteína apresentou variação de 3,31 a 5,31%. A porção proteica do leite é constituída de 77 a 79% de caseína e de 21 a 23% de proteínas do soro (albumina e globulina). A caseína está presente principalmente na forma de micelas com as frações α_1 (4%), α_2 (6,3%), β (35%) e κ (4%) (DE FRANCISCIS; DI PALO, 1994). Segundo Ménard et al. (2010) as micelas de caseína do leite de búfalas são

maiores do que de vaca, o que resulta em uma coalhada com menos água do que a do leite de vaca. Na análise de aminoácidos, o leite de búfalas apresenta 25,5% de aminoácidos essenciais a mais do que o leite de vaca (VERRUMA; SALGADO, 1993).

Tabela 2.3 – Densidade, acidez e pH do leite de búfalas observados por diferentes autores

Pesquisadores	Características Físicas		
	Densidade g/mL	Acidez °D	pH
Macedo et al. (2001)	ND	18,98	ND
Palomino e Sangama (2002)	1,03	16,00	6,72
Patiño (2004)	1,03	19,65 ± 2,96	6,71 ± 0,16
Ahmad et al. (2008)	ND	ND	6,81 ± 0,06
Han et al. (2007)	ND	ND	6,53 ± 0,28
Tripaldi (2010)	ND	ND	6,67 ± 0,10
Hussain et al. (2012)	ND	ND	6,80 ± 0,02

ND = Não determinado.

Tabela 2.4 – Composição físico-química do leite de búfala obtida por pesquisadores no mundo

Autores	Composição						
	Local	Gordura	Proteína	Lactose	Cinzas	ST	ESD
				(%)			
Tonhati et al. (2000)	Brasil	6,87	3,90	ND	ND	ND	ND
Macedo et al. (2001)	Brasil	6,59	4,13	ND	ND	17,01	10,47
Palomino e Sangama (2002)	Peru	6,22	4,97	4,05	0,65	15,89	9,67
Coelho et al. (2004)	Brasil	6,83	4,20	5,02	ND	17,23	ND
Patiño (2004)	Argentina	7,22	3,85	4,49	0,83	16,35	9,13
Patiño e Guanzioli (2005)	Argentina	8,80	5,20	4,55	0,78	18,42	9,62
Han et al. (2007)	China	6,57	4,27	5,07	0,79	16,69	10,33
Ahmad et al. (2008)	França	7,00	ND	5,21	0,84	ND	ND
Aurelia et al. (2009)	Roménia	8,59	5,31	2,95	ND	ND	ND
Tripaldi (2010)	Itália	7,47	4,50	4,78	ND	ND	ND
Khan et al. (2011)	Paquistão	7,47	3,31	5,24	0,77	ND	ND
Araújo (2012)	Brasil	7,06	4,32	ND	ND	16,84	ND

ST = Sólidos totais; ESD = Extrato seco desengordurado; ND = Não determinado.

A lactose apresenta variação de 2,95 a 5,24%, já a gordura de 6,22 a 8,80% e o alto teor de sólidos totais, de 15,89 a 18,42% representa a gordura, proteína, lactose e cinzas. Isso leva a um melhor rendimento na fabricação de queijos com leite de búfalas (SWAMINATHAN; PARPIA, 1968; COCKRILL, 1981; NASCIMENTO; CARVALHO,

1993). Este rendimento com leite de búfala pode ser 40% a mais, quando comparado ao leite de vaca (TEIXEIRA; BASTIANETO; OLIVEIRA, 2005; ANDRADE et al., 2011).

As variações de composição físico-química (gordura, proteína, lactose, sólidos totais) no leite dos animais, assim como a quantidade de leite produzido recebem influência de vários fatores do animal (raça, idade, estágio de lactação), da alimentação e do ambiente (estação do ano e estresse). O teor médio de cinzas também tem sido observado ser maior no leite de búfala que de vaca (Tabela 2.2) com variação de 0,65 a 0,84% (Tabela 2.4). Há também ampla variação nos teores dos diversos minerais existentes no leite de búfala, dependente do metabolismo mineral dos animais e dos teores de minerais da dieta, sendo o Ca, P e K os principais minerais encontrados no leite de búfala (Tabela 2.5).

Tabela 2.5 – Níveis de minerais no leite de búfala observados por diferentes pesquisadores

Autores	Na	Ca	Mg	Cl	P	K	Fe	Mn	Zn
	%								
Albonico et al. (1967-68 apud Zava, 2011, p.373)	0,075	0,203	0,200	0,065	0,129	0,139	ND	ND	ND
Verruma e Salgado (1994)	ND	1,880	0,090	ND	0,900	0,900	0,061	0,012	0,100
Patiño et al. (2005)	0,030	0,216	0,014		0,132	0,101	0,002	0,006	0,001
	±	±	±	ND	±	±	±	±	±
	0,005	0,032	0,003		0,010	0,019	0,001	0,0003	0,0003
Medhammar et al. (2012)	0,047	0,191	0,012	0,057	ND	0,112	ND	ND	ND

ND = Não determinado.

2.1.3 Características microbiológicas do leite de búfala

Assim como outros aspectos relacionados à bubalinocultura, as características microbiológicas do leite de búfala são pouco estudadas e conhecidas. O leite de búfala *in natura* possui características similares ao de bovino, apresentando alta perecibilidade (grande fonte de substratos para proliferação de microrganismos), e contaminação por microrganismos, advindos do processo de obtenção, transporte e processamento até a distribuição e comercialização de seus derivados.

Dois parâmetros muito importantes para medir a qualidade microbiológica do leite são a contagem bacteriana total (CBT) e contagem de células somáticas (CCS). A carga microbiológica inicial do leite *in natura* de búfala pode ser aumentada, pelo hábito das búfalas permanecerem em poças de água e até lama, visando melhorar a termorregulação (NASCIMENTO; CARVALHO, 1993). Este fato acarreta a formação de uma crosta de lama

sob o corpo dos animais o que pode levar a contaminação do leite, alterando a sua qualidade, podendo gerar prejuízos aos produtores e laticínios.

Este problema poderá ser resolvido com a higienização adequada da glândula mamária das búfalas antes da ordenha e posterior sanitização dos tetos com solução de iodo (pré-dipping).

A qualidade bacteriológica do leite *in natura* está relacionada com o manejo empregado na ordenha (manual ou mecânica). A adoção de técnicas adequadas de limpeza e sanitização, ou seja, da higienização dos utensílios, equipamentos, instalações e do úbere dos animais, resulta na obtenção de leite com boa qualidade microbiológica, com reduzida contagem de microrganismos deteriorantes e ausência das bactérias patogênicas (FONSECA; SANTOS, 2000). A CBT é utilizada como indicador da eficiência da higienização no momento da ordenha (VAJDI HOKMABAD, 2011).

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), para leite cru refrigerado bovino, o limite máximo da CBT do rebanho (amostra de tanques) é de $6,0 \times 10^5$ cel/mL e acima deste valor indica falta de higiene na fazenda. Este valor deverá ser reduzido para $3,0 \times 10^5$ de 2014 até 2016 nas regiões Sul (S), Sudeste (SE) e Centro-Oeste (CO) e a partir de 2017 no Norte (N) e Nordeste (NE) e para $1,0 \times 10^5$, a partir de 2016 nas regiões S, SE e CO e de 2015 a 2017 no N e NE (BRASIL, 2011). Como não existe legislação específica para búfalas, muitos produtores seguem este padrão para avaliar o leite de búfala produzido em suas propriedades.

Ranucci et al. (1988) consideraram a CCS no leite de búfalas, como método seguro para o diagnóstico da mastite. Ogala et al. (2007), Santos e Fonseca (2007) afirmaram que a CCS é um importante indicador de qualidade, higiene e controle da mastite. O aumento da CCS está associado com alteração na qualidade do leite, mudanças da composição de gordura (diminui), proteínas (caseína diminui, apesar da porção total não variar, mudanças no tipo de proteínas), lactose (diminui até 10%) e minerais (queda de cálcio e potássio, aumento de sódio e cloro), como também, o aumento do pH e atividade enzimática (aumento da proteólise e lipólise, conferindo sabor amargo e rançoso). Em búfalas sabe-se que há diferenças quantitativas e qualitativas nas células presentes no leite comparado ao leite de vaca (SILVA; SILVA, 1994).

Segundo Ruegg (2003) a variação da contagem de células somáticas (CCS) durante a lactação é pouco conhecida e divergente e pode ser justificado pelo fato da CCS não ser facilmente isolada dos outros fatores intrínsecos e extrínsecos de variabilidade da composição do leite.

Para a CCS em leite cru refrigerado bovino, o MAPA também determina o limite máximo para rebanho de $6,0 \times 10^5$ células/mL e valores acima deste representa mastite nos animais. Nos próximos anos este valor cairá para $5,0 \times 10^5$ (de 2014 até 2016 nas regiões S, SE, CO e a partir de 2015 a 2017 nas regiões N e NE) e para $4,0 \times 10^5$ (a partir de 2016 nas regiões S, SE, CO e a partir de 2017 nas regiões, N e NE) (BRASIL, 2011). Já para leite de búfala não existe qualquer legislação que estabelece padrões para a CCS. Carvalho et al. (2007) relataram que o padrão CCS para bubalinos é diferente do normalmente encontrado em bovinos.

Em trabalhos realizados com leite de búfalas há uma diversidade de valores para indicar se o animal está com mastite ou não. Porém, conforme Medeiros et al. (2011), podemos considerar que búfalas sem mastite podem apresentar a CCS até 280.000 células/mL; já Dhakal (2006) cita até 200.000 células/mL. Acima deste valor é indicativo de infecção subclínica da glândula mamária. Entretanto, Dhakal, Kapur e Sharma (1992) afirmaram que os baixos valores de CCS não indicam necessariamente a ausência de infecção intramamária (Tabela 2.6).

Tabela 2.6 – Contagem de Células Somáticas em leite de búfalas observado por diferentes pesquisadores

Pesquisadores	CCS (células/mL)
Galiero e Morena (2000)	Sem Mastite - 50.000 a 100.000
Dhakal (2006)	Mastite Subclínica < 200.000
Dhakal, Neupane e Nagahata (2008)	Sem Mastite - 171.000 Mastite Subclínica- 799.000 Mastite Clínica - 6.039.000
Medeiros et al. (2011)	Mastite < 280.000

A escolha de um eficiente método de diagnóstico da mastite é essencial para se estabelecer um bom tratamento (PELEGRINO et al., 2008; MOTA, 2008). Vários são os métodos de diagnóstico da mastite subclínica. Entre eles, o teste da caneca (“prova de Tamis”), *California Mastitis Test* (CMT), *Wisconsin Mastitis Test* (WMT) ou viscosímetro, condutividade elétrica (EC), contagem microscópica direta e contagem eletrônica (CCS) e a cultura microbiológica (meio de cultura) (SANTOS; FONSECA, 2007; KAMPHUIS et al., 2008).

O *California Mastitis Test* (CMT) é uma prova de avaliação indireta do número de CS do leite que foi padronizada por Schalm e Noorlander em 1957 (SILVA et al., 1996). O CMT tem como vantagem o uso no campo, no momento da ordenha (BRITO et al., 1997), além de ser prático, de baixo custo e fornecer resultados imediatos (ENEVOLDSEN; GROHN; THISEN, 1995). Vianni et al. (1990) e Jorge et al. (2005) afirmaram que o CMT mostrou elevada eficiência na estimativa do número de células somáticas do leite bubalino, porém há estudos que relatam que o CMT não é um bom teste de triagem para mastite em bubalinos (KAPRONEZAI, 2004). Já Medeiros et al. (2011) concluíram que o exame microbiológico do leite é o melhor método para diagnóstico da mastite subclínica em búfalas.

O CMT baseia-se em uma reação do detergente aniônico, chamado alquil lauril sulfonato de sódio, que é capaz de emulsionar os lipídios das membranas dos leucócitos presentes no leite, liberando o DNA, resultando em um composto gelificado correspondente à quantidade de células presentes. A intensidade da reação é classificada em 5 escores: negativo, traço (suspeito), positivo 1+, 2+ e 3+ (BLOOD; RADOSTOSIS, 1991).

A condutividade elétrica (CE) baseia-se no princípio, que vacas com mastite apresentam alteração na carga iônica do leite (em função de lesão do epitélio secretor e/ou alteração da permeabilidade vascular). Esse quadro determina aumento na concentração de sódio e cloro no leite e redução nos níveis de potássio e lactose, gerando, assim, aumento na condutividade elétrica (FONSECA; SANTOS, 2000; PHILPOT; NICKERSON, 2002; SANTOS; FONSECA, 2007). Assim, a corrente elétrica irá fluir mais facilmente através do leite mastítico do que num leite normal não infectado, devido ao elevado conteúdo iônico (PHILPOT; NICKERSON, 2002).

Para realizar a análise de CE são utilizados equipamentos portáteis de fácil manuseio ou dispositivos automatizados inseridos no próprio equipamento de ordenha (MAATJE, et al. 1992). Não há um valor fixo fisiológico para a condutividade elétrica do leite que possa ser utilizado para todos os animais do rebanho (FERNANDO; RINDDSIG; SPAHR, 1982).

A contagem eletrônica de CS (também chamadas de contagem eletrônica de células somáticas – CECS) pode ser realizada por contadores de partículas (Coulter Counter) e contadores baseados em citometria de fluxo (*Somacount* ou *Fossomatic*). O primeiro método é inespecífico baseado na contagem de impulsos elétricos e, portanto, sofre influência da quantidade de glóbulos de gordura e partículas citoplasmáticas, resultando em contagens quase duas vezes maiores que as do *Somacount* ou *Fossomatic* (POUTREL; LERONDELLE, 1983).

Os contadores eletrônicos possuem as vantagens de serem automatizados, possibilitando maior rapidez e precisão dos resultados, podendo ser analisadas até 500 amostras/hora (FONSECA; SANTOS, 2000). Os contadores eletrônicos registram os dados no computador tornando, assim, possível a obtenção de relatórios periódicos da CCS (PHILPOT e NICKERSON, 2002). No princípio analítico de citometria de fluxo se baseia na alíquota da amostra de leite cru com bronopol automaticamente pipetada para o interior do equipamento e misturada com reagentes. O reagente promove o rompimento das membranas das células somáticas, fazendo com que o DNA fique exposto e corado (FOSS, 2000). Para a identificação das células somáticas o equipamento se utiliza de uma lâmpada halógena, que emite raios de luz azul que incidem sobre o DNA corado promovendo pulsos de luz de cor vermelha. Já para realizar a CSS o equipamento amplifica os pulsos emitidos pelo DNA corado realizando uma contagem por um foto-multiplicador. Desta forma o equipamento emitirá o resultado em células por mL, impressos e transcritos para os relatórios (FOSS, 2000).

2.2 Balanço cátion-aniônico da dieta (BCAD) e sua ação no metabolismo animal

Segundo Jorge et al. (2011), as necessidades nutricionais das búfalas leiteiras são provavelmente diferentes das vacas leiteiras, e os padrões de alimentação apropriados para búfalas não estão claramente definidos, havendo grandes diferenças, de até 40%, nos requerimentos nutricionais prescritos. Desta forma, por causa das poucas informações, estes padrões não refletem as exigências para diferentes planos de nutrição, qualidade do alimento ou variação individual dos animais sob condições tropicais, o que estimulam pesquisas para elucidar as necessidades nutricionais das búfalas, buscando melhor eficiência do sistema de produção.

Somado a isso, em bubalinos o metabolismo mineral também não é tão conhecido como nos bovinos; há carência de informações sobre o comportamento digestivo e o aproveitamento de minerais nessa espécie animal. Assim, estudos que forneçam essas informações são importantes para o manejo nutricional adequado, principalmente quanto ao fornecimento de dietas ideais ou alternativas para maior produtividade desta espécie (SOUZA; FRANZOLIN; SOARES, 2009).

De acordo com Fredeen, Depeters e Baldwin (1988) as concentrações dos minerais importantes na nutrição dos ruminantes deveriam ser rotineiramente avaliadas, bem como os efeitos da dieta no equilíbrio ácido-básico do seu metabolismo.

Os minerais atuam de forma direta ou indireta em diversas funções biológicas, como na formação dos ossos e no equilíbrio eletrolítico das células. Conforme National Research Council (1989), os minerais cálcio (Ca^+), fósforo (P^+), magnésio (Mg^+), sódio (Na^+), potássio (K^+), cloro (Cl^-) e enxofre (S^-) foram considerados como nutrientes essenciais na dieta de vacas leiteiras pelo fato de serem requeridos em maiores quantidades e encontrados em maiores concentrações no corpo animal e nos alimentos em relação aos demais minerais.

Em nutrição animal, o estudo do balanço cátion-aniônico dietético (BCAD), ou a diferença cátion-aniônica da dieta (DCAD), também chamado de balanço eletrolítico (BE) ou ainda de balanço iônico da dieta (BID) (STEWART, 1978 apud BLOCK, 1994), teve início com a avicultura de corte, devido a constatação de que os minerais devem ser ajustados na dieta, não somente em relação aos níveis de exigências, mas também pelo balanço, que é de suma importância para um ótimo desempenho animal.

O BCAD é caracterizado como a diferença entre os cátions (íons de carga positivos que doam elétrons) e os ânions (íons de carga negativa que recebem elétrons) presentes na dieta (BLOCK, 1994). O BCAD para ruminantes é calculado na grande maioria dos trabalhos em miliequivalente (mEq) de $(\text{Na}^+ + \text{K}^+) - (\text{Cl}^- + \text{SO}_4^-)$ por kg ou 100 gramas de matéria seca (MS). O Na^+ , K^+ e o Cl^- são os mais utilizados por serem os mais atuantes no equilíbrio ácido-base, sendo chamados de “íons fixos”, pois são íons biodisponíveis e não metabolizáveis (STEWART, 1978 apud BLOCK, 1994). Além disso, conforme Block (1990) o Na, K, Cl e o SO_4 podem alterar o balanço osmótico, mecanismo de transporte de membrana, impulsos nervosos e outros processos metabólicos.

O enxofre, não é um íon fixo, porém é incluído no cálculo de BCAD dos ruminantes, pois acidifica os fluídos biológicos e, em altas concentrações na dieta pode alterar o equilíbrio ácido-base (MONGIN, 1981; COLE; ZLOTKIN, 1983 apud BLOCK, 1994). Os íons Ca, Mg e P apesar de serem importantes nas dietas dos animais são retirados do cálculo, por possuírem pequena influência no balanço ácido-básico fisiológico (MONGIN, 1981). Segundo Mayberry e Sundberg (1993) isso se justifica, pois eles são pouco absorvidos no intestino, sendo de 40% para o Ca, 30% para Mg e 50% para o P; em contra partida o Na, K e Cl tem índice de absorção intestinal acima de 90% e S com cerca de 60%.

Conforme McDowell (1992) o Cl é absorvido no rúmen e principalmente no intestino delgado, sendo excretado na urina e em pequenas quantidades nas fezes e transpiração. Harper et al. (1977) afirmaram que o Cl é o principal ânion do plasma sanguíneo e fluido intracelular, atuando principalmente no equilíbrio ácido-base e na manutenção da pressão osmótica. Conforme Wheeler (1980) o metabolismo do Cl é controlado pelo Na (manter eletroneutralidade) que quando em excesso resulta em maior eliminação de Cl pelos rins. Como a dieta dos ruminantes normalmente é pobre em Cl é necessário fornecer este mineral através do NaCl. Porém, é necessário ter cuidado com o fornecimento do sal comum (NaCl) *ad libitum*, pois o cloreto é o mais acidogênico dos elementos, ou seja, em excesso leva o animal a acidose metabólica e/ou respiratória, o que pode ser minimizado fornecendo Na e K que são alcalinogênicos (GUYTON, 1988).

O Na tem a maior capacidade catiônica do plasma sanguíneo e líquido extracelular, mantendo sua concentração no sangue constante (consumo e excreção). É absorvido pelo intestino delgado (sistema de bombas), sendo quase todo excretado pela urina (95%). Ele está relacionado com Cl e bicarbonato no equilíbrio ácido-base (SWENSON, 1984), e com os íons K e hidrogênio (H) na sua reabsorção (passagem equivalente na direção contrária do Na). Animais com deficiência de Na tendem a reter mais deste mineral e diminuir a sua excreção, mas se o aumento da ingestão de Na for maior, ocorre o contrário, aumentando a ingestão de água (McDOWELL, 1992).

Segundo Block (1994) o que explicaria a relação entre o BCAD e o desempenho animal é, principalmente, a bomba de Na^+ e K^+ (manutenção de altos níveis de K^+ e baixo níveis de Na^+ dentro da célula). É um mecanismo ativo, que envolve energia na forma de Trifosfato de Adenosina (ATP) (consumindo cerca de 40% da energia de manutenção). A bomba de Na^+ e K^+ atua constantemente e independentemente de outros processos metabólicos, no entanto, promove a entrada de glicose para a célula. A diminuição no funcionamento da bomba de Na^+ e K^+ pode prejudicar as células, principalmente as da glândula mamária, que requerem grandes quantidades de glicose para a síntese de lactose. Já o excesso de um cátion em relação ao outro pode promover aumento da velocidade da bomba, com consequente demanda adicional de energia para a manutenção celular, ou uma redução na velocidade, levando a célula a utilizar menor quantidade de energia.

O potássio (K) é o principal cátion dos fluidos intracelulares que influencia no equilíbrio ácido-base e pressão osmótica (retenção de água). Seu papel maior é a relação com outros cátions (como Na). Forragem contém níveis adequados de K, dependendo do nível de K no solo, porém, animais que só consomem concentrados necessitarão receber

suplementação (SWENSON, 1984). A sua absorção ocorre no rúmen, omaso e no restante do trato gastrointestinal (WHEELER, 1980; McDOWELL, 1992). A excreção do K se faz pelos rins (estes não possuem habilidade para conservá-lo no organismo de forma eficiente), sendo controlada pela competição com os íons H no mecanismo de reabsorção. O K é mantido no organismo à custa do Na, resultando em uma relação de reciprocidade (SWENSON, 1984).

As dietas com maior proporção de cátions são chamadas catiônicas ou positivas (podendo causar alcalose metabólica), ou dietas alcalinogênicas. Já as dietas com maior proporção de ânions são as aniônicas ou negativas (podendo causar a acidose metabólica), sendo também chamadas de acidogênicas (STEWART, 1978 apud BLOCK, 1994).

A maioria dos alimentos consumidos pelos ruminantes possuem BCAD positivo (NRC, 1989), como o caso da silagem de milho e o farelo de soja, com BCAD respectivos de +156,4 e +266,37 mEq/kg/MS. Já outros alimentos como a aveia e a cevada possuem BCAD negativo de -26,95 e -23,4 (BLOCK, 1994). Para alterar o BCAD e o mesmo se tornar positivo é necessário administrar fontes de Na e K à dieta, como o bicarbonato de sódio, cloreto de sódio e potássio. Para proporcionar um BCAD negativo é necessário adicionar fontes de Cl e S, como sulfato de magnésio, sulfato de amônio, sulfato cálcio, cloreto de amônio, cloreto de cálcio e cloreto de magnésio, por exemplo. Ressalta-se que algumas fontes podem conter tanto cátions como ânions que interferem no BCAD, entretanto, o balanço depende da carga molar dos minerais, para a dieta ficar mais positiva ou negativa.

Dependendo do tipo de dieta oferecida, e, portanto do equilíbrio ácido-base gerado, muitas funções do metabolismo animal são alteradas e dependendo da função se têm melhor resultado com balanço positivo, ou com negativo (BLOCK, 1990). Desta forma, o BCAD exerce vários efeitos sobre o metabolismo animal. Sua principal ação é atuar na regulação do equilíbrio ácido-base, mas atua também na manutenção da integridade osmótica, relação com reações enzimáticas e condução de impulsos nervosos (WHEELER, 1980). Em vacas leiteiras, além das funções já citadas, as inter-relações cátion-aniônicas também influenciam o desempenho lactacional (SANCHES; BEEDE, 1996).

Conforme definição de Patience (1991) o balanço ácido-base não pode ser apenas definido em termos de pH do sangue, mas também deve incluir a pressão de dióxido de carbono ($p\text{CO}_2$), bicarbonato (HCO_3) e de bases. Além do *status* ácido-base, esses parâmetros, em conjunto, ajudam também a definir alguma anormalidade que o animal possa apresentar.

Segundo Guyton (1988) a regulação da concentração do íon H^+ nos líquidos corporais representa um dos fatores mais importantes do equilíbrio ácido-base. O corpo

realiza esta função prioritariamente para que o pH dos fluidos corporais seja mantido adequado, utilizando mecanismos compensatórios como o sistema tampão do sangue, mecanismo do sistema respiratório e mecanismos de excreção e reabsorção renal (CUNNINGHAM, 1999).

Os animais são eletricamente neutros e o balanço ácido-base é afetado pela ingestão de cátions e ânions (TUCKER; HARRISON; HEMKEN, 1988). Pehrson et al. (1999) concluíram que em vacas a diferença quantitativa entre cátions e ânions representa o *status* ácido-base do animal, e Erdman, Hemken e Bull (1982) que este é próximo da alcalinidade no pós-parto.

Assim, é necessário manter internamente o equilíbrio, ou seja, a neutralidade elétrica dos fluidos corporais. O aumento de um cátion é contrabalanceado pela redução de algum outro cátion (bomba de sódio e potássio) e/ou aumento de um ou mais ânions, para manter a neutralidade; o contrário também acontece.

Ross, Spears e Garlich (1994) afirmaram que o BCAD afeta o balanço ácido-base em vários animais, e Sanchez e Beede (1996) observaram que em vacas lactantes o BCA também influencia o desempenho da lactação. Miles e Butcher (1993) concluíram que o equilíbrio ácido-base tem relação direta com o metabolismo animal e consequentemente com seu desempenho animal.

O organismo utiliza mecanismos compensatórios para manter o pH. Os diversos tampões intra e extracelulares (hemoglobina e outras proteínas, carbonato nos ossos, fosfatos e bicarbonatos) agem para neutralizar o íon H^+ , com a finalidade de manter o pH dentro dos limites fisiológicos. Qualquer alteração aguda no pH do sangue, estes tampões normalizam o pH rapidamente. Na presença da hidroxila, os grupamentos ácidos da proteína cedem seus íons H^+ formando água. Em meio ácido, a queda de pH pode ser evitada, quando os íons H^+ reagem, com o grupamento carboxila das proteínas (DAVENPORT, 1973).

O BCAD pode influenciar o equilíbrio ácido-base do sangue, em último caso, quando as compensações respiratória e renal forem incapazes de eliminar a carga ácida ou alcalina (PATIENCE, 1991). Caso seja necessário, a influência do BCA sobre o pH sanguíneo tem início no trato gastrointestinal, no qual a absorção de cátions é acompanhada da secreção de íons H^+ e, a de ânions acompanhada da absorção de H^+ , ou secreção de HCO_3^- (BLOCK, 1994). Quando o íon cloreto está com níveis mais elevados que o íon Na (o que acontece em uma dieta aniônica), o íon cloreto é absorvido na troca com o HCO_3^- , o que gera uma drenagem de bicarbonato do sangue para o intestino, podendo levar a uma condição de acidose, uma vez que o bicarbonato é um importante tampão sanguíneo. Por

outro lado, quando existe o predomínio de Na (em uma dieta catiônica) a absorção desse elemento é acompanhada pela troca de íons H^+ , os quais vão para o intestino, diminuindo suas concentrações no sangue, promovendo uma condição de alcalose metabólica.

No sangue há um importante sistema tampão, o bicarbonato-ácido carbônico. Quando há entrada de substâncias ácidas no sangue, o bicarbonato recebe um íon H^+ e transforma-se em ácido carbônico (ácido fraco, que mantém-se em equilíbrio com o CO_2 , sendo eliminado pelos pulmões) (DOUGLAS, 2002).

Cunningham (1999) cita o sistema respiratório como importante processo na manutenção do pH sanguíneo. Ele promove eliminação de maiores quantidades de dióxido de carbono e, conseqüente, diminuição da concentração de ácido carbônico no sangue. Miles e Butcher (1993) afirmam que os pulmões também são de fundamental importância na regulação do pH dos fluidos corporais, uma vez que podem conservar esse ácido volátil durante a alcalose (aumenta o pH, diminui respiração, aumenta a pCO_2 nas artérias levando a queda do pH), ou eliminá-lo durante a acidose (diminuição do pH, aumento da respiração, diminuição da pCO_2 com elevação do pH).

O sistema renal também atua no controle do pH. Seu objetivo é manter a constância do meio interno, através da excreção e regulação de íons H^+ . Quando ocorre a alcalose metabólica, o pH plasmático e a concentração de HCO_3^- estão elevados mesmo se houver compensação respiratória com pCO_2 . Assim, tem-se a excreção urinária de HCO_3^- para manter a eletroneutralidade. A urina fica alcalina e cátions, principalmente o Na, são eliminados e a taxa de excreção do Cl é reduzida (DAVENPORT, 1973).

Já na acidose metabólica ocorre o inverso, o pH, a concentração plasmática HCO_3^- e pCO_2 estão abaixo do normal. Então a urina excretada é ácida, havendo aumento da concentração de HCO_3^- plasmático. Com a urina ácida, íons amônio são excretados e Na é conservado. Para que o equilíbrio elétrico seja mantido, para cada íon H^+ excretado na urina, um Na é reabsorvido, isto é, a excreção de um ácido é acompanhada pela adição de $NaHCO_3$. Desta forma, durante a alcalose ou acidose, as duas variáveis mais afetadas são a concentração plasmática de bicarbonato e a quantidade de tampão na urina (DAVENPORT, 1973).

Ácidos são substâncias que tendem a doar íons H^+ para uma solução e bases tendem a receber. Em condições normais de ingestão de alimentos ou do metabolismo celular, ácidos e bases são produzidos e acrescentados nos líquidos corporais. Entretanto, normalmente funções metabólicas normais resultam na produção de ácidos (ácido láctico, ácido carbônico e ácido fosfórico) (SWENSON, 1984). De acordo com Cunningham (1991) a

quantidade de ácido produzido por um animal sofre influencia da alimentação, nível de atividade, fases do ciclo, nível de produção, entre outros.

Quando ruminantes são alimentados repentinamente com dieta de concentrado rica em grãos, ocorre aumento nas quantidades de ácido láctico no rumem e no sangue, promovendo desequilíbrio do balanço cátion-aniônico, e consequentemente, acidose láctica (BLOCK, 1984). O estresse causado pelo calor, no meio ambiente pode induzir o animal a uma alcalose metabólica, comprometendo seu desempenho (MONGIN, 1981).

Vários pesquisadores observaram aumento no pH sanguíneo com aumento no BCAD nas dietas (WEST, 1990; JACKSON et al., 1992; TUCKER; HARRISON; HEMKEN, 1988; GOFF; HORST, 1997; ROCHE; PETCH; KAY, 2005; KRZYWIECKI et al., 2005; APPER-BOSSARD et al., 2006; CORREA et al., 2006; APPER-BOSSARD et al., 2010). Contrariamente, outros autores não notaram qualquer alteração (TUCKER et al., 1991; HU et al., 2007; GANJKHANLOU; NIKKHAH; ZALI, 2010).

Vários trabalhos científicos relatam diferentes efeitos em parâmetros sanguíneos em bovinos alimentados com dietas com diferentes BCAD, demonstrando necessidade de pesquisas para elucidar melhor o processo metabólico dos animais relacionado ao balanço cátion- aniônico, conforme discriminado na Tabela 2.7.

Na espécie bubalina há poucas pesquisas realizadas nessa área. Shahzad, Sarwar e Nisa (2008), no Paquistão, avaliaram a influência do BCAD, sobre a produção e composição do leite de búfalas da raça Nili-Ravi no início da lactação e observaram que o aumento do BCAD na dieta promoveu aumento do pH sanguíneo e das concentrações séricas de HCO_3^- . Houve maior concentração sanguíneas de Ca e Cl na dieta mais aniônica (-110 mEq/kg de MS), mas o Mg e P permaneceram inalterados. Observaram ainda que o P, K e Na aumentaram o equilíbrio ácido-base nas búfalas alimentadas com dietas catiônicas de +220 e +330 mEq/kg de MS.

Sharif et al. (2010) avaliaram o BCAD em dietas sobre a ingestão de nutrientes, digestibilidade, parâmetros ruminais, estado ácido-base sanguíneo e cinética da degradação in situ, em búfalos da raça Nili-Ravi. Quatro dietas iso-nitrogenadas e iso-calóricas com -110, +110, +220 e +330 mEq/kg de MS, foram representadas por A (aniônica), CB (catiônica baixo), MC (médio catiônica) e CA (catiônica alta), respectivamente. O pH do sangue e HCO_3^- aumentaram à medida que nível BCAD foi elevado na dieta. No soro sanguíneo, o Ca e as concentrações de Cl foram maiores nos animais alimentados com dietas CB, enquanto que os minerais Mg, P e S no sangue mantiveram-se inalterados.

Tabela 2.7 – Observações dos efeitos do aumento do balanço cátion-aniônico dietéticos (BCAD) com os componentes sanguíneos em diferentes espécies de animais, obtidas por pesquisadores

Pesquisadores	Item avaliado no sangue com aumento do BCAD						
	HCO ₃	pCO ₂	Cálcio	Cloro	Potássio	Sódio	Magnésio
Tucker, Harrison e Hemken (1988)	aumenta	ND	ND	diminui	aumenta	aumenta	ND
West (1990)	aumenta	aumenta	ND	ND	ND	ND	ND
Tucker et al. (1991)	aumenta	AS	ND	ND	SA	SA	ND
Jackson et al. (1992)	ND	aumenta	aumenta	diminui	ND	ND	ND
Goff e Horst (1997)	aumenta	ND	ND	ND	SA	SA	ND
Setti, Schalch e Zanetti (1998)	ND	ND	SA	ND	SA	ND	SA
Tauriainen (2003)	ND	ND	SA	ND	ND	ND	ND
Roche, Petch e Kay (2005)	aumenta	aumenta	aumenta	diminui	diminui	aumenta	ND
Krzywiecki et al. (2005)	ND	diminui	ND	ND	ND	ND	ND
Del Claro et al. (2006)	ND	ND	diminui	ND	ND	ND	ND
Apper-Bossard et al. (2006)	aumenta	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Hu et al. (2007)	ND	AS	ND	ND	ND	ND	ND
Apper-Bossard et al. (2010)	aumenta	aumenta	ND	ND	ND	ND	ND
Ganjkhanelou, Nikkhah e Zali (2010)	ND	ND	SA	ND	SA	SA	SA

BCAD = Balanço cátion-aniônico dietético; HCO₃ = Bicarbonato; pCO₂ = Pressão de óxido de carbono; ND = Não determinado; SA = Sem alteração.

Pesquisa recente foi realizada por Shahzad et al. (2011) para examinar a influência do BCAD sobre o estado ácido-base, a dinâmica de minerais, a ocorrência de febre do leite e edema de úbere em búfalas Nili-Ravi. Quatro dietas iso-nitrogenadas e iso-calóricas com BCAD de -220, -110, +110 e 220 mEq/kg de MS foram formuladas e designadas como aniônica elevada (AE), aniônica baixa (AB), catiônica de baixo (CB) e catiônica elevada (CE), respectivamente. As búfalas alimentadas com dieta AE apresentaram maior digestibilidade dos nutrientes que animais alimentados com a dieta CE. O pH arterial e HCO₃⁻ sérico foram maiores em búfalas alimentadas com as dietas CB e CE. No soro sanguíneo, o BCAD medido através da equação $(Na^{+} + K^{+}) - (Cl^{-} + S^{-})$ foi mais alto em búfalas alimentadas com dietas CB e CE que nas búfalas com dietas AB e AE. O Ca e Cl séricos foram mais elevados com a diminuição do nível do BCAD, enquanto Mg, P e S permaneceram inalteradas.

Desta forma, os resultados citados na literatura especializada são variados, demonstrando que as características avaliadas sofrem interferências de vários fatores, promovendo respostas amplamente diferentes.

2.2.1 BCAD no metabolismo ruminal e no desempenho animal

Mongin, (1981) e Fauchou et al. (1995) afirmaram que no processo de manutenção do bem-estar homeostático dos animais, a homeostase do equilíbrio ácido-base tem prioridade, diante de várias outras funções como o crescimento, a lactação ou a reprodução. Isso ocorre, por exemplo, em situações de acidose ou alcalose metabólica. O mecanismo da bomba de Na e K, pode explicar essa estreita relação entre o BCAD e o desempenho do animal (BLOCK, 1994).

O rúmen é um ecossistema anaeróbico microbiano, com a presença de bactérias (maior parte), fungos e protozoários, temperatura entre 39 a 42°C, pH de 6 a 7 e substratos com atividade fermentativa variada (KOZLOSKI, 2002). É um compartimento gástrico complexo e dinâmico contendo muitas espécies de bactérias ainda não isoladas e identificadas, dificultando o conhecimento das interações metabólicas existentes entre as diversas espécies de animais ruminantes (VAN SOEST, 1994).

Os microrganismos do rúmen conseguem transformar o enxofre inorgânico em compostos orgânicos sulfurados, os quais são utilizados pelos próprios microrganismos e pelo animal (MASON; KELLEHER; LETTERS, 1982). Desta forma quando há deficiência de enxofre na dieta pode ocorrer a redução da atividade e crescimento microbiano no rúmen, além de diminuir a ingestão de fibra pelo animal, e também alterações na síntese proteica e composição dos microrganismos do rúmen (CARNEIRO et al., 2000).

Além das ações na regulação do equilíbrio ácido-base, através da bomba de Na⁺ e K⁺, e os efeitos sobre o metabolismo animal, o BCAD pode exercer efeitos também na fermentação ruminal. Tucker, Harrison e Hemken (1988) que forneceram a vacas Holandesas lactantes, dietas com níveis de BCAD diferentes, de -10, 0, +10, ou +20 mEq/kg/MS, observaram que a produção de leite foi maior em cerca de 8,6% nas búfalas alimentadas com a dieta de +20 mEq/kg/MS do que a com dieta com -10 mEq/kg/MS. Os níveis de bicarbonato do sangue, pH da urina, e o pH do sangue e do líquido ruminal aumentaram linearmente com aumento do BCAD, mas alterações na fermentação ruminal não foram observadas, a não ser a concentração do AGCC isovalérico que foi maior do BCAD de +20 mEq/kg/M em relação aos demais. Essa resposta foi obtida em função do equilíbrio dietético entre cátions e ânions

gerado, ao invés da ação de um único íon. Os pesquisadores concluíram que a regulação do BCAD pode tornar-se uma ferramenta útil para melhorar o desempenho de bovinos de leite em lactação.

Estes resultados reforçam as conclusões obtidas por Delaquis e Block (1995) que verificaram em vacas Holandesas, após o consumo de dietas com diferentes BCAD (de +481,8 e +327,2 mEq/kg de MS), que o mesmo não interferiu no consumo e digestibilidade da MS, FDA, FDN, e nitrogênio e que os componentes sanguíneos também não são afetados, com exceção do bicarbonato e do íon H^+ que foram menores no BCAD menor.

Já Vagnoni e Oetzel (1998) trabalhando com dietas aniônicas de -40, -51 e -63 mEq/kg/MS (adicionando fontes aniônicas como o sulfato de magnésio, sulfato de cálcio, cloreto de amônia e cloreto de cálcio) e a controle com +203 mEq/kg/MS, com vacas secas, canuladas, da raça Holstein, observaram decréscimo no pH do líquido ruminal com a diminuição do BCAD, mas a fermentação ruminal não se alterou, incluindo o nitrogênio amoniacal (com media dos tratamentos de 13,32 mM), a concentração de ácido acético (media de 68,9 mol/100 mol de AGCC), o ácido propiônico (média de 19,6 mol/100 mol de AGCC), o ácido butírico (media dos tratamentos de 11,5 mol/100 mol de AGCC) e a relação ácido acético, ácido propiônico (media de 3,52). Entretanto, a produção total de AGCC foi maior da dieta com BCAD de +203 mEq/kg/MS, sendo igual a dieta -63 mEq/kg/MS, e diferente das demais. Já ingestão de matéria seca foi maior na dieta controle, se diferenciando das demais, porém sendo igual a dieta -40 mEq/kg/MS.

Os efeitos do BCAD sobre a fermentação ruminal ainda precisam ser elucidados, o que parece explicar atualmente a estreita ação observada do BCAD com o desempenho produtivo dos animais de produção. De fato, quando o equilíbrio ácido-base se encontra adequado, os animais podem apresentar melhores resultados na produção. Trabalhos têm sido realizados visando avaliar essa relação em diferentes espécies animais com resultados interessantes. Patience et al. (1987) observaram que suínos em crescimento, obtiveram melhor desempenho com BCAD variando de 0 a +341mEq/kg de MS. Já com frangos este valor, segundo Mongin (1981), seria ao redor de +250mEq/kg de MS para o crescimento máximo.

Em ruminantes há escassez de pesquisas nessa área, o que dificulta a identificação de valores ótimos, particularmente com a espécie bubalina. Em cordeiros Fauchon, Seoane e Bernier (1995), estudaram o efeito do BCAD sobre o desempenho e equilíbrio ácido-base. As dietas possuíam BCAD de +100, +300, +500 e +700 mEq/kg/MS.

Os animais alimentados com BCAD entre +500 e +700 mEq/kg/MS tiveram maior consumo de ração e maiores ganhos diários com pouco efeito sobre a digestibilidade dos nutrientes.

Para bovinos de corte em crescimento, Ross, Spears e Garlich (1994) indicaram que dietas com BCAD entre +150 e +300mEq/kg/MS seriam mais adequadas para melhor desempenho de novilhos Angus, enquanto que para bovinos em terminação, Ross, Spears, e Garlich (1994) indicaram dieta com BCAD de +150mEq/kg/MS.

Já Del Claro, Zanetti e Salles (2002) trabalhando com bovinos machos em crescimento suplementados com sulfato de amônio na dieta, não observaram diferença na ingestão de matéria seca ao ser comparado com a dieta sem os sais aniônicos. Del Claro et al. (2005) estudaram o efeito do BCAD, de cinco dietas com BCAD de -160, -40, 140, 250 e 500 mEq/kg/MS, no desempenho animal e na fermentação ruminal, de 25 carneiros machos, da raça Santa Inês, durante 75 dias. Para a correção do BCAD, foram adicionados sulfato de amônio e bicarbonato de sódio. Os autores observaram que o aumento do BCAD resultou em aumento da ingestão de matéria seca, do ganho diário, da eficiência alimentar e do pH ruminal. O perfil de ácidos graxos ruminais e a digestibilidade aparente (média de 71,43%) não foram afetados pelo BCAD.

Em búfalos, Shahzad, Sarwar e Nisa (2007) avaliaram a influência de dietas com diferentes BCAD (+110, +220 e +330 mEq / kg de MS) no desempenho de animais em crescimento. Foi observado aumento linear na ingestão de nutrientes com aumento do nível BCAD. No entanto, a digestibilidade dos nutrientes permaneceu inalterada em todas as dietas. Bezerros alimentados com BCAD de +330 mEq / kg de MS tiveram balanço superior de nitrogênio do que aqueles que consumiram a dieta BCAD +110 mEq / kg de MS. Os búfalos alimentados com BCAD de +220 e +330 mEq / kg de MS, ganharam mais peso do que aqueles que consumiram a dieta de +110 mEq / kg de MS. Em conclusão, aumento do nível BCAD não só promoveu aumento da ingestão de matéria seca, mas também o ganho de peso em búfalos em crescimento.

Apper-Bossard et al. (2010) avaliaram dietas contendo níveis de 20% e 40% na MS de concentrado e três níveis de BCAD de 0, +150 e +300 mEq/kg de MS (foram obtidos manipulando Na e Cl para atingir o BCAD das dietas) em vacas Holandesas canuladas, sobre a IMS e os efeitos metabólicos nos animais. Com aumento do BCAD ocorreu aumento da IMS (sendo maior nas dietas com 40% de concentrado), do pH da urina e modificou a excreção urinária de minerais, como baixo BCAD, 70% de Cl e apenas 16% de Na foram excretados na urina, enquanto que com alta BCAD, 33% de Cl e 53% de Na foram excretados. O aumento do BCAD não afetou o pH ruminal que pode ser justificado pelo efeito

tampão e da maior quantidade de bicarbonato reciclado no rúmen, a proporção molar dos ácidos graxos de cadeia curta e a digestibilidade das fibra.

Sharif et al. (2010) testaram dietas com diferentes BCAD na ingestão de nutrientes, digestibilidade, parâmetros ruminais, estado ácido-base sanguíneo e cinética da degradação *in situ*, em quatro búfalos machos, canulados da raça Nili-Ravi. Quatro dietas iso-nitrogenadas e iso-calóricas com -110, +110, +220 e +330 mEq/kg de MS, foram representadas por A (aniônica), CB (catiônica baixo), CM (catiônica médio) e CA (catiônica alta), respectivamente. Com BCAD mais elevado a ingestão de nutrientes foi melhorada, enquanto que a digestibilidade permaneceu inalterada. O nitrogênio amoniacal, pH ruminal, o acetato e a relação acetato: propionato foram maiores nos búfalos alimentados com dietas CM e CA (+220 e +330 mEq/kg/MS) que aqueles alimentados com dietas A e LC (-110 e +110 mEq/kg/MS). O pH urinário aumentou com o aumento dos níveis de BCAD na dieta. O consumo de nitrogênio e concentrações no sangue de nitrogênio uréico, também foram maiores nos búfalos alimentados com dietas CM e CA. Ocorreu também aumento na degradabilidade ruminal da MS, FDN, a taxa de degradação e extensão da digestão em níveis elevados de BCAD. Dessa forma, búfalos alimentados com dietas CM e CA aumentaram o consumo de ração e melhoraram metabolismo ruminal e cinética da digestibilidade.

2.2.2 BCAD na produção de leite

Trabalhos com BCAD em bovinos leiteiros têm sido focados no controle de doenças e distúrbios metabólicos, como hipocalcemia pré-parto, febre do leite, no pós-parto, e alguns estudos na produção e qualidade do leite.

Dishington (1975) notou que a incidência da febre do leite ou paresia puerperal (doença que acomete vacas e que pode levar a morte do animal) em vacas no pós-parto, foi reduzida quando os ânions Cl e S estavam em excesso na dieta em relação aos íons Na e K, durante o período seco. Isso ocorre, pois dietas aniônicas mantêm níveis adequados de Ca e P séricos durante o período de estresse de Ca. Segundo Goff et al. (1991) a febre do leite se caracteriza pela inabilidade de algumas vacas, em suprir o rápido aumento da demanda do Ca, ocasionando queda brusca no nível sérico deste mineral.

Pesquisas sugerem que rações balanceadas negativamente favorecem vacas no período pré-parto (HARRIS, 1993; WU et al., 2008). Enquanto rações balanceadas positivamente favorecem vacas em lactação, proporcionando níveis maiores de produção de leite, fato também observado em búfalas por Shahzad et al. (2011).

Com o progresso da lactação, o pH e a concentração de bicarbonato do sangue aumentam, sugerindo que vacas no final da lactação são mais susceptíveis à alcalose, enquanto vacas no início da lactação são mais susceptíveis à acidose (ERDMAN; HEMKEN; BULL, 1982).

Em vacas leiteiras, além das funções já citadas, as inter-relações cátion-aniônicas também influenciam o desempenho lactacional (SANCHES; BEEDE, 1996). O BCAD pode exercer influência em vacas leiteiras, aumentando a ingestão de matéria seca (IMS) (TUCKER et al., 1994) e produção de leite (BLOCK, 1994; TUCKER, HARRISON E HEMKEN, 1988; WEST et al., 1991; ZIA et al, 2001).

Hu e Murphy (2004) avaliaram estudos realizados entre 1984 e 1997 sobre o BCAD e seu envolvimento com a produção de leite, constatando que BCAD afeta o desempenho de vacas leiteiras em lactação, sendo o rendimento máximo de leite e consumo de ração atingidos, respectivamente com BCAD de +34 e +40 mEq/100g de MS. O pH e a concentração do bicarbonato no sangue aumentaram com BCAD, indicando um equilíbrio ácido-base melhor durante a lactação em vacas leiteiras.

Apper-Bossard e Peyraud (2004) estudaram vacas em lactação com a ingestão de dois níveis de concentrado (com 20% e 40% na MS). Cada grupo foi dividido em dois quadrados latinos 3x3 para testar três BCAD de 0, +150 e +300 mEq/kg de MS sobre o desempenho produtivo, líquido ruminal e equilíbrio ácido-base. Constataram que o consumo de ração e a produção de leite corrigida (pela gordura) foi aumentada com o aumento BCAD. Observaram também que as respostas foram maiores com a dieta rica em concentrado 40% na MS e que o pH ruminal e os ácidos graxos foram ligeiramente afetados pelos tratamentos, enquanto o estado ácido-base foi muito afetado, sugerindo que o aumento BCAD melhora o desempenho produtivo dos animais através de mudanças no equilíbrio ácido-base gerado.

Apper-Bossard et al. (2006) trabalharam com vacas Holandesas de alta produção leiteira em dietas com dois níveis de concentrado, sendo de 20% (4% de amido rapidamente degradável) e 40% (22% de amido rapidamente degradável) na MS, ambas contendo BCAD de 0, +150 e +300 mEq/kg de MS (corrigidas com fontes de Na e Cl). O BCAD positivo aumentou a IMS e produção de leite devido ao efeito tamponante no rúmen, somado a capacidade do BCAD positivo em manter equilíbrio do estado ácido-básico no sangue em vacas de alta produção. Apper-Bossard et al. (2010) sugeriram que a IMS de vacas alimentadas com dietas de BCAD baixa foi limitada à necessidade em manter o pH do sangue em faixa fisiológica adequada. Entretanto, em dietas com BCAD alto isso não ocorre, visto

que é mantido no sangue estado ácido-base equilibrado (que pode ser justificado pela excreção renal de prótons e íons fortes e reabsorção renal de bicarbonato).

Block (1994) concluiu que dietas altamente catiônicas (BCAD positivo) para vacas em lactação aumentam IMS e a produção de leite, pois, os ruminantes possuem altas taxas metabólicas, já que há tendência para o ambiente celular se tornar ácido, corroborando com os trabalhos de West (1990) e Apper-Bossard e Peyraud (2004).

Esses resultados vão ao encontro com dados mais recentes publicados por Ganjkhani, Nikkha e Zali (2010) com vacas Holandesas em três dietas com BCAD de -130, 0 e +130 mEq/kg de MS, utilizando o cloreto e o sulfato de amônio para correção do BCAD. A produção de leite e as concentrações de gordura foram aumentadas com o aumento do BCAD. Entretanto a composição do leite, no que se refere à proteína e lactose não foram afetadas pelo BCAD. Já Correa et al. (2014) avaliaram quatro dietas com valores médios de BCAD de +155, +289, +410, e +491 mEq/kg de MS em vacas holandesas. Com o aumento do BCAD aumentou-se a IMS e produção de leite; após o pico da lactação houve aumento linear na IMS e produção de leite, demonstrando o efeito benéfico das dietas catiônicas, porém não houve diferença na eficiência alimentar entre os tratamentos.

Entretanto, West et al. (1992), Borucki Castro et al. (2004), Chan et al. (2005) e Roche, Petch e Kay (2005), trabalhando com vacas recebendo dietas com diferentes BCAD não observaram aumento da produção de leite. Correa et al. (2006) avaliaram em vacas Holandesas em lactação, durante o verão, quatro níveis de dietas catiônicas (+150, +250, +400 e +500 mEq kg de MS), utilizando o bicarbonato de sódio para correção. Não houve alteração na porcentagem de gordura, densidade e índice crioscópico do leite. O pH do leite aumentou linearmente e a acidez apresentou resposta cúbica com o aumento do BCAD.

Hu et al. (2007) testaram duas dietas com BCAD de +220 e +470 mEq/kg de MS sobre o desempenho e *status* ácido-base em vacas pós-parto. O BCAD não afetou a produção de leite, mas sim a IMS, a produção de leite corrigida pelo teor de gordura a 4% e a composição do leite no que se refere a gordura, proteína, sólidos totais e desengordurado. Block (1984) sugeriu BCAD crítico para vacas no pré-parto entre +62 e -128 mEq/kg de MS. Enquanto que Sanchez e Blauwiel (1995) sugeriram em vacas secas o BCAD com valores negativos entre -100 a -150 mEq/kg de MS.

Para vacas em lactação segundo Tucker, Harrison e Hemken (1988), o máximo desempenho pode ser conseguido com BCAD entre +200 e +375 mEq/kg de MS, entretanto para Sanchez e Beede (1996), este valor se encontra entre +250 e +500 mEq/kg de MS.

Zia et al. (2001) afirmaram que durante a lactação com aumento do BCAD, pode haver aumento da IMS, em função dos benefícios de alimentos catiônicos como volumosos (forrageira e concentrado), o que seria uma vantagem no sistema de produção brasileiro. Block (1994) sugeriu, e Tucker, Harrison e Hemken (1988) e West et al. (1991) comprovaram que dietas catiônicas aumentam a IMS, produção de leite e até reduzem os efeitos do estresse pelo calor. Como durante a lactação, as vacas apresentam altas taxas metabólicas (ambiente celular tende a tornar-se ácido) é necessário fornecer dietas altamente catiônicas (maiores níveis de Na e K em relação Cl e S), promovendo efeitos alcalinogênicos.

De fato, há efeitos do BCAD na composição do leite com aumento do teor de gordura (KRZYWIECKI et al., 2005). Dentre os trabalhos que verificaram uma influência na composição do leite ligado aumento da gordura, encontram-se os de Krzywiecki et al. (2005) e Roche, Petch e Kay (2005). Já o aumento da gordura e proteína foi verificado por Waterman et al. (1991). Porém, nos trabalhos de West et al. (1992) não foi verificado influência nos níveis do BCAD na composição do leite.

Devido a importância da qualidade do leite de búfala, o aumento da quantidade de leite produzido sem alteração da qualidade e da composição do mesmo, possibilita melhoria na rentabilidade para os produtos (JORGE; GOMES; HALT, 2002). Um dos poucos estudos com búfalas encontra-se o realizado por Shahzad; Sarwar; Nisa (2008), no Paquistão, que verificaram a influência do BCAD, sobre a produção e composição do leite de búfalas da raça Nili-Ravi, no início da lactação. Nas búfalas, assim, como nas vacas, o BCAD é um importante determinante do impacto da dieta sobre o estado ácido-básico sistêmico da lactação, que pode ser utilizado para melhorar a produtividade leiteira. A ingestão de nutrientes, pH da urina e do sangue, produção de leite e gordura do leite, aumentaram linearmente com o aumento do BCAD (saindo de uma dieta aniônica para uma catiônica).

O que se conclui das diversas pesquisas realizadas para avaliar a produção de leite, independente dos valores recomendados, é que o BCAD para vacas deverá ser alto no início da lactação e diminuir ao longo da lactação, de tal forma a ser negativo, de 3 a 4 semanas antes do parto, para evitar a febre do leite (BYERS, 1994). Jackson et al. (2001) sugeriram ainda que vacas em lactação, além de receberem dieta catiônica, devem ser suplementadas com NaCl, a fim de impedir a acidose ruminal e manter a porcentagem da gordura de leite.

A dificuldade enfrentada pelos pesquisadores em definir valores ótimos do BCAD para os animais, segundo Block (1990) ocorre devido às várias funções metabólicas

que são manipuladas pela alteração do equilíbrio ácido-base. Contudo, algumas funções respondem melhor em balanço positivo, e outras em balanço negativo. Dessa forma, recomendações específicas para BCAD ótimos tornam-se complexas.

Referências

- AHMAD, S.; GAUCHER, I.; ROUSSEAU, F.; BEAUCHER, E.; PIOT, M.; GRONGET, J.F.; GAUCHERON, F. Effects of acidification on physico-chemical characteristics of buffalo milk: A comparison with cow's milk. **Food Chemistry**, Barking, v.106, n.1, p.11-17, 2008.
- AKBAR, M.A.; KUMARI, R.; SINGH, N. Effect of feeding by pass protein with and without biopromoters on milk production, and certain rumen and blood metabolites in lactating Murrah buffaloes. **Indian Journal of Animal Science**, New Delhi, v.69, n.11, p.967-971, 1999.
- AMARAL, F.R.; ESCRIVÃO, S.C. Aspectos Relacionados à Búfala Leiteira. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 29, n.2, p.11-117, 2005.
- ANDRADE, K.V.; RANGEL, A.H.N.; ARAÚJO, V.M.; LIMA JÚNIOR, D.M.; OLIVEIRA, N.A. Efeito da estação do ano na qualidade do leite de búfalas. **Rev. Verde Agroecol. Desenvol. Susten.**, v.6, n.3, p.33-37, 2011.
- ANDRIGHETTO, C. Cadeia produtiva do leite de búfala - visão da universidade. In: SIMPÓSIO DA CADEIA PRODUTIVA DA BUBALINOCULTURA, 2., 2011, Botucatu. **Anais...** Botucatu: 1th INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF BUFALO PRODUCTION CHAIN, 2011. p.1.
- APPER-BOSSARD, E.; PEYRAUD, J.L. Dietary cation-anion difference could enhance acid-base status of lactating dairy cows submit to a sub acidosis. **J. Anim. Feed Sci.**, v.13, p.27-30, 2004.
- APPER-BOSSARD, E.; PEYRAUD, J. L.; FAVERDIN, P.; MESCHY, F. Changing Dietary Cation-Anion Difference for Dairy Cows Fed with Two Contrasting Levels of Concentrate in Diets. **J. Dairy Sci.** v.89, p.749-760, 2006.
- APPER-BOSSARD, E.; FAVERDIN, P.; MESCHY, F.; PEYRAUD, J.L. Effects of dietary cation-anion difference on ruminal metabolism and blood acid-base regulation in dairy cows receiving 2 contrasting levels of concentrate in diets. **Journal of dairy Science**, Champaign, v.93, n.9, p.4196-210, 2010.
- ARAÚJO, K B.S.; RANGEL, A.H.N.; FONSECA, F.C.E.; AGUIAR, E.M.; SIMPLICÍO, A.A.; NOVAES, L.P.; LIMA JÚNIOR, D.M. Influence of the year and calving season on production, composition and muzzarella cheese yield of water buffalo in the State of Rio Grande Do Norte, Brazil. **Italian Journal of Animal Science**, v.11-16, n.1, p.87-91, 2012.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE BÚFALOS (ABCB)**. Disponível em: <http://www.bufalo.com.br/abcb.html>. Acesso em: 12 abr. 2011.

AURELIA, P.; COROIAN, C.; RĂDUCU, C.; MIREȘAN, V.; MUREȘAN, M. The study of the main parameters quality of buffalo milk. **Journal Central European Agriculture**, v.10, n.3, p.201-206, 2009.

BERNARDES, O. Bubalinocultura no Brasil: situação e importância econômica. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.31, n.3, p.293-298, jul. /set., 2007.

BLOCK, E. Manipulating dietary anions and cations for prepartum dairy cows to reduce incidence of milk fever. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.67, n.12, p.2939-2948, 1984.

BLOCK, E. The response to the balance of major minerals by dairy cow. **Dairy Science Abstracts**, Wallingford, v.52, p.12, 1990.

BLOCK, E. Manipulation of dietary cation-anion difference on nutritionally related production diseases, productivity, and metabolic responses of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.7, n.5, p.1437-1450, 1994.

BLOOD, D.C.; RADOSTOSIS, O.M. **Veterinary medicine**. 7.ed. London: Baillière Tindall, p.501-59, 1991.

BORUCKI CASTRO, S.I.; PHILLIP, L.E.; GIRARD, V.; TREMBLAY, A. Altering dietary cation-anion difference in lactating dairy cows to reduce phosphorus excretion to the environment. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.87, p.1751-1757, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa n.º 61 de 29 de dezembro de 2011. Altera a Instrução Normativa n.º 51 e dispõe sobre a Aprovação do Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial da União**, Brasília, 30 dez. 2011. Seção 1. Disponível em: <<http://sisistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 07 ago. 2012.

BRITO, J.R.F.; CALDEIRA, G.A.V.; VERNEQUE, R.S. BRITO, M.A.V.P. Sensibilidade e especificidade do “California Mastitis Test” como recurso diagnóstico da mastite subclínica em relação à contagem de células somáticas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro v.17, n.2, p.49-53, abr./jun.1997.

BYERS, D.I. Management considerations for successful use of anionic salts in dry-cow diets. **Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.**, v.16, n.1-3, p.237-242, 1994.

CAMPANILE, G.; BERNARDES, O.; BASTIANETTO, E.; BARUSELLI, P.S.; ZICARELLI, L.; VECCHIO, D. Manejo de Búfalas Leiteiras. **Buffalo Tec**. Associação Brasileira de Criadores de Búfalos. 2007. 74p.

CARVALHO, L.B.; AMARAL, F.R.; BRITO, M.A.V.P.; LANGE, C.C; BRITO, J.R.F.; LEITE, R.C. Contagem de células somáticas e isolamento de agentes causadores de mastite

em búfalas (*Bubalus bubalis*) **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.59, n.1, p.242-245, 2007.

CASTILHO, G.; MACCIOTTA, N.P.P.; CARRETTA, A.; CAPPIO-BORLINO, A. Effects of age and calving season on lactation curves of milk production traits in Italian Water buffaloes. **Journal Dairy Science**, v.85, p.1298-1306, 2002.

CARNEIRO, H. et al. Effects of dietary sulfur level on amino acid concentrations in ruminal bacteria of goats. **Small Rum. Res.** Amsterdam, v.37, n.1-2, p.151-157, 2000.

CERÓN-MUÑOZ M.; TONHATI H.; DUARTE J.; MUÑOZ-BERROCAL M.; JURADO-GÁMEZ H. Factors affecting somatic cell counts and their relations with milk and milk constituent yield in buffaloes. **Journal of Dairy Science**. v. 85, p.2885-2889, 2002.

CHAN, P.S.; WEST, J.W.; BERNARD, J.K.; FERNANDEZ, M. Effects of dietary cation-anion difference on intake, milk yield, and blood components of the early lactation cow. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.88, p.4384-4392, 2005.

COCKRILL RW. The water buffalo: A review. **Br. Vet. J.**, London, v.137, p.8-16, 1981.

COELHO, K.O.; MACHADO, P.F.; COLDEBELLA, A.; CASSOLI, L.D.; CORASSIN, C.H. Determinação do perfil físico-químico de amostras de leite de búfalas, por meio de analisadores automatizados. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.5, n.3, p.167-170, jul./set., 2004.

CORREA, L. B.; ZANETTI, M. A.; DEL CLARO, G. R.; PAIVA, F. A. D.; ELMOR, L. D. Balanço cátion-aniônico da dieta na composição do leite. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.5, p.1589-1593, 2006.

CORREA, L.B.; ZANETTI, M.A.; SARAN NETTO, A.; DEL CLARO, G.R.; PAIVA, F.A.; MARTINS, P.G.M.A. Effects of supplemental dietary sodium bicarbonate on performance of lactating Holstein cows during the summer season in Brazil. **Livestock Science**, v.169, p.78-82, 2014.

CUNNINGHAM, J.G. **Tratado de fisiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1999.

DAVENPORT, H. W. **ABC da Química Ácido-Básica do Sangue**. São Paulo: Ateneu, 1973.

DE FRANCISCIS G.; DI PALO R. Buffalo milk production. In: World Buffalo Congress, 4, 1994, São Paulo. **Resumo...** São Paulo: Associação Brasileira de Criadores de Búfalos. 1994. p.137-145.

DELAQUIS, A.M.; BLOCK, E. Acid-base status, renal function, water, and macromineral metabolism of dry cows fed diets differing in cation-anion difference. **J. Dairy Sci.**, v. 78, p. 604-619, 1995.

DEL CLARO, G.R.; ZANETTI, M.A.; SALLES, M.S.V. Influência da dieta aniônica no balanço macromineral em novilhos holandeses. **Arq. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 74, n.3, p.281-283, 2002.

DEL CLARO, G.R.; ZANETTI, F.A; SARAN NETO, A.; SALLES, M.S.V.; CORREA, L.B. Influência do balanço cátion-aniónico da dieta no rúmen e no desempenho de ovinos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.57, n.5, p.644-651, 2005.

DEL CLARO, G.R.; ZANETTI, M.A.; CORREA, L.B; SARAN NETTO, A.; PAIVA, F.A. Balanço cátion-aniónico da dieta no metabolismo de cálcio em ovinos. **Ciência Rural**, Leme, v.36, n.1, p.222-228, 2006.

DEMÉ, M.C.F.; LIMA, C.T.S.; MARCONDES, C.R; RIBEIRO, M.E.R.; GARNER, A.D.V.; SANTOS, C.S. Produção e Qualidade de bubalinos no Rio Grande do Sul: dados preliminares. **Documento 296**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA-Clima temperado), Pelotas, 2011.

DHAKAL, J. P.; KAPUR, M. P.; SHARMA, A. Significance of differential somatic cell counts in milk for the diagnosis of subclinical mastitis in buffaloes using foremilk and strippings milk. **Indian Journal of Animal Health**, Calcutta, v. 31, n. 1, p. 39-42, 1992.

DHAKAL, I.P. Normal somatic cell count and subclinical mastitis in Murrah buffaloes. **J. Vet. Med.**, Berlin, v. 53, p. 81–86, 2006.

DHAKAL, I.P.; NEUPANE, M.; NAGAHATA, H. Evaluation of direct and indirect measures of quarter milk from crossbred buffaloes. **Animal Science Journal**, v. 79, p. 628-633, 2008.

DISHINGTON, I. W. Prevention of milk fever (hypocalcemic paresis puerperalis) by dietary salt supplements. **Acta Vet. Scand.**, Copenhagen, v.16, p.503-512, 1975.

DOUGLAS, C.R. **Tratado de fisiologia aplicada à nutrição**. São Paulo: Robe, 2002.

DUBEY, O.C.; SUMAN, C.L.; SANYAL, M.K.; PANDEY, H.S.; SAXENA, M.M.; YADAV, P.L. Factors affecting composition of milk of buffaloes. **Indian Journal of Animal Science**, New Delhi, v.67, n.9, p. 802-804, 1997.

ENEVOLDSEN, C; GROHN, Y.; THISEN, I. Dairy cow characteristics related to *Staphylococcus aureus* isolation from quarter samples. **Journal of Dairy Research**, London, v.62, n.1, p.69-81, 1995.

ERDMAN, R A.; HEMKEN, R.W.; BULL, L.S. Dietary sodium bicarbonate and magnesium oxide for early lactation dairy cows: effects on production, acid-base metabolism and digestion. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.65, p.712-731, 1982.

FARIA M.H.; TONHATI H.; CERÓN-MUÑOZ M.; DUARTE J.M.C.; VASCONCELOS B.F. Características físico-químicas do leite de búfalas ao longo da lactação. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Santa Terezinha, v. 57, n.324, p.3-7, 2002.

FAUCHON, C.; SEOANE, J. R.; BERNIER, J. F. Effects of dietary cation-anion concentrations on performance and acid-base balance in growing lambs. **J. Anim. Sci.**, Champaign, v.75, p.145-151, 1995.

FERNANDO, R.S.; RINDSIG, R.B.; SPAHR, S.L. Electrical conductivity of milk for detection of mastite. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 65, p.659-664, 1982.

FONSECA, W. **O Búfalo: Sinônimo de Carne, Leite, Manteiga e Trabalho**, 4.ed. São Paulo: Ícone, Coleção Brasil Agrícola, 1986. p. 47-48.

FONSECA, W. **Búfalo: estudo e comportamento**. São Paulo: Ícone, 1987.

FONSECA, L.F.; SANTOS, M.V. Contagem de células somáticas. In: **Qualidade do leite e controle de mastite**, São Paulo: Lemos, 2000, p. 44-58.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e Controle de Mastite**. 2.ed. São Paulo: Lemos, 2001. p. 169-174.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **O búfalo**. Brasília (DF): Associação Brasileira de Criadores de Búfalos, 1991.320p.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **FAOSTAT**. Disponível em: <[http:// http://faostat3.fao.org/browse/Q/QL/S](http://http://faostat3.fao.org/browse/Q/QL/S)>. Acesso em: 10. mar., 2015.

FOOS – Foss fist in food analysis. Integrated milk testing. Reference manual, Hillerrod, 420 p, 2002

FREDEEN, A.; DEPETERNS, E.J.; BALDWIN, R.L. Characterization of acid-base disturbances and effects on calcium and phosphorus balances of dietary fixed ions in pregnant or lactating does. **J. Anim. Sci.**, Champaign, v.66, p.159-173, 1988.

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

GANJKHANLOU, M.; NIKKHAH, A.; ZALI, A. Effect of dietary cation-anion balance on milk production and blood mineral of Holstein cows during the last two months of pregnancy. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v.9, n.36, p.5983-5988, 2010.

GOFF, J.P.; HORST, R.L.; MULLER, F.J.; MILLER, J.K.; KIESS, G.A.; DOWLEN, H.H. Addition of chloride to a prepartal diet high in cations increases 1,25-dihydroxyvitamin D response to hypocalcemia preventing milk fever. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.74, n.11, p.3863-3871, 1991.

GOFF, J.P.; HORST, R.L. Effects of the addition of potassium or sodium, but not calcium, to prepartum rations on milk fever in dairy cows. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.80, p.176-186, 1997.

GUYTON, A.C. **Tratado de fisiologia médica**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.

HAN, B-Z.; MENG, Y.; LI, M.; YANG, Y-X.; REN, F-Z.; ZENG, Q-K.; NOUT, M.JR. A survey on the microbiological and chemical composition of buffalo milk in China. **Food Control**, Vurrey, v.18, p. 742-746, 2007.

HARPER, H.A.; RODWELL, V.W.; MAYES, P.A. **Review of physiological chemistry**. 17 ed. Los Altos: Lange Medical Publication, 1977, p.626-649.

HARRIS Jr.; B. Dietary electrolyte balancing rations in the prepartum or late dry period. **Agri-Practice**, v.14, p.21-24, 1993.

HU, W.; MURPHY, M.R. Dietary cation-anion difference effects on performance and acid-base status of lactating dairy cows: a meta-analysis **J. Dairy Sci.**, v.87, p.2222-2229, 2004.

HU, W.; MURPHY, M.R.; CONSTABLE, P.D.; BLOCK, E. Dietary cation-anion difference effects on performance and acid-base status of dairy cows postpartum. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n.7, p.3367-75, 2007.

HUSSAIN, I.; BELL, A. E.; GRANDISON, A. S. Mozzarella-Type Curd Made from Buffalo, Cows' and Ultrafiltered Cows' Milk. 1. Rheology and Microstructure. **Food and Bioprocess Technology**, 11 de abr., 2012. Disponível em: <<http://rd.springer.com/article/10.1007/s11947-012-0837-2#page-1>>. Acesso em: 21 ago. 2012.

JACKSON, J.A.; HOPKINS, D.M.; XIN, Z.; HEMKEN, R.W. Influence of cation-anion balance on feed intake, body weight gain, and humoral response of dairy calves. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.75, n.5, p.1281-1286, 1992.

JANA, A.H.; MANDAL, P.K. Manufacturing and Quality of Mozzarella Cheese: Review. **International Journal of Dairy Science**, New Jersey, v.6, n.4, p. 199-226, 2011.

JORGE, A.M.; GOMES, M.I.F.V.; HALT, R.C. Efeito da Utilização da Somatotropina Bovina Recombinante (bST) sobre a Produção de Leite em Búfalas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, São Paulo, v.31, n.3, p.1230-1234, 2002.

JORGE, A.M.; ANDRIGHETTO, C.; STRAZZA, M.R.B.; CORREA, R.C.; KASBURGO, G.; PICCININ, A.; VICTÓRIA, C.; DOMINGUES, P.F. Correlação entre o California Mastitis Test (CMT) e a Contagem de Células Somáticas (CCS) do Leite de Búfalas Murrah. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.34, n.6, p.2039-2045, 2005.

JORGE, A.M.; COUTO, A.G.; CRUDELI, G.A.; PATIÑO, E.M. **Produção de Búfalas de Leite**. Botucatu: FEPAF, 2011.

KAMPHUIS, C.; SHERLOCK, R.; JAGO, J.; HOGVEEN, H. Automatic detection of clinical mastitis is improved by In-line monitoring of somatic cell count. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 91, n.12, p.4560-4570, 2008.

KAPRONEZAI, J. **Estudo de provas microbiológicas e celulares em amostras de leite provenientes de fêmeas bubalinas (*Bubalus bubalis*) no Estado de São Paulo**. 2004. 82 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

KHAN, S.; QURESHI, M. S.; AHMED, I.; SHAH, S. M. Milk composition and yield changes with advancing pregnancy in dairy buff aloes (*Bubalus bubalis*). **J. Vet. Anim. Sci.**, v. 35, n. 6, p. 375-380, 2011.

KRZYWIECKI, S.; BODARSKI, R.; PRES, J.; LUCZAK, W. The relationship between cation-anion differences in dairy cow diets and some blood indices levels and milk composition. **J. Anim. Feed Sci.**, Poland, v.14, p.271-274, 2005.

KOSLOSK, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. 1º ed. Santa Maria:Ed. UFSM, 2002.

LAMONTAGNA C.; FRANZOLIM R. Níveis de proteína não degradável na dieta sobre a qualidade do leite de búfalas em pastagem. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.**, v. 10, p.322-332, 2009.

MAATJE, K.; HUIJSMENE, P.J; ROSSING, W.; HOGWERF, P.H. The efficacy of on-line measurement of quarter milk electrical conductivity, milk yield and milk for the detection do clinical and subclinical mastitis. **Livest. Prod. Sci.**, v.30, p.239, 1992.

MACEDO, M.P.; WECHSLER, F.S.; RAMOS, A. de A.; AMARAL, J.B. do; SOUZA, J.C. de; RESENDE, F.D. de; OLIVEIRA, J.V. de. Composição Físico-Química e Produção do Leite de Búfalas da Raça Mediterrâneo no Oeste do Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n. 3, p. 1084-1088, 2001.

MAYBERRY, J.P.; SUNDBERG, P.L. Feeding the dry cow to avoid parturient paresis. **Iowa State University Veterinarian**, Ames, v.55, n.2, p.86-91, 1993.

MASON, J., KELLEHER, C. A., LETTERS J. The demonstration of protein-bound 99Mo-di- and trithiomolybdate in sheep plasma after the infusion of 99 Mo-labelled molybdate into the rumen. **British Journal Nutrition**, v.48, p.391-397, 1982.

McDOWELL, L.R. **Minerals in Animal and Human Nutrition**. New York: Academi, 1992.

MEDEIROS, E.S.; BARBOSA, S.B.P.; JATOBA, R.B.; AZEVEDO, S.S.; JUNIOR, J.W.P.; SAUKAS, T.N.; ALBUQUERQUE, P.P.; MOTA, R.A. Perfil da contagem de células somáticas na infecção intramamária em búfalas na Região Nordeste do Brasil. **Pesquisa Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v.31, n.3, p. 219-223, mar., 2011.

MEDHAMMAR, E.; WIJESINHA-BETTONI, R.; STADLMAYR, B.; NILSSON, E, CHARRONDIERE, U.R.; BURLINGAME. Composition of milk from minor dairy animals and buffalo breeds: a biodiversity perspective. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 92, p. 445–474, 2012.

MÉNARD, O.; AHMAD, S.; ROUSSEAU, F.; BRIARD-BION, V.; GAUCHERON, F.; LOPEZ, C. Buffalo vs. cow milk fat globules: Size distribution, zeta-potential, compositions in total fatty acids and in polar lipids from the milk fat globule membrane. **Food Chemistry**, Barking, v. 120, p. 544-551, 2010.

MILES, R.; BUTCHER, G. Equilíbrio ácido-base I: princípios básicos. **Indústria avícola**, p.21-24, 1993.

MONGIN, P. Recent advances in dietary anion-cation balance: applications in poultry. **Pro. Nutr. Soc.**, Cambridge, v.40, n.3, p.285-2295, 1981.

MOTA, R.A. Aspectos epidemiológicos, diagnóstico e controle das mastites em caprinos e ovinos. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.2, n.3, p.57-61, 2008. Disponível em:<http://www.emepa.org.br/revista/volumes/tca_v2_n3_set/tca08_aspectos_epid.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2012.

NADER FILHO, A.; AMARAL, L.A.; TONHATI, H.; PENHA, L.H.C; TOLEDO, L.M. Variação das características físico-químicas do leite de búfala, durante os diferentes meses do período de lactação. **ARS Veterinária**, v.12, p148-153, 1996.

NASCIMENTO, C.N.B.; CARVALHO, L.O.M. **Criação de búfalos: alimentação, manejo, melhoramento e instalações**. Brasília: EMBRAPA – SPI, 1993.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrients requirements of dairy cattle**. 6. ed. Washington, D.C. National Academy of Sciences, 1989. 157p.

OGALA, H.; SHITANDI, A.; NANUA, J. Effect of mastitis on milk compositional quality. **Journal of Veterinary Science**, Suwon, v. 8, n. 3, p.237-242, 2007.

PALOMINO, P.A.H.; SANGAMA, E.D. Elaboración de queso mozzarella a partir de leche de *bubalus bubalis* (Ganado Bupalino). **Revista Amazónica de Investigación Alimentaria**, Iquitos, v.2, n.2, p.19-30, 2002.

PATIENCE, J. F.; AUSTIC, R. E.; BOYD, R. D. Effect of dietary electrolyte balance on growth and acid-base status in swine. **J. Anim. Sci**, Champaign, v.64, p.457-466, 1987.

PATIENCE, J. F. Acid-base balance in animal nutrition. In: CONTINUING EDUCATION CONFERENCE. Coaling, CA. **Proceeding...** Harris Ranch: ARPAS, 1991, p.1-41.

PATÍÑO, E.M. Factores que afectan las propiedades físicas y la composición química de la leche de búfalas (*Bubalus bubalis*) en Corrientes, Argentina. **Revista Vet.**, Buenos Aires, v.15, n.1, p.21-25, 2004.

PATÍÑO, E.M.; GUANZILORI, S. Composición de leche de búfala (*Bubalus bubalis*) de raza Jafarabadi en Corrientes, Argentina. **Revista Eletrônica de Veterinaria-REVET**, v.6, n.5, 2005. Disponível em:<<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050505.html>>. Acesso em:12 ago. 2012.

PATÍÑO, E.M.; PATÍÑO, E.M.; FAISAL, E.L.; CEDRES, J.F.; MENDEZ, F.I.; GUANZIROLI STEFANI, C. Contenido mineral de leche de búfalas (*Bubalus bubalis*) en Corrientes, Argentina. **Rev. Vet.**, Buenos Aires, v.16, n.1, p. 40-42, 2005.

PEHRSON, B.; SVENSSON, C.; GRUVAEUS, I.; VIRKKI, M. The influence of acidic diets on the acid-base balance of dry cows and the effect of fertilization on the mineral content of Grass. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.82, p.1310-1316, 1999.

PELEGRINO, R.C.; MELLO, F.C.; AMARAL, G.A.C. Mastite em vacas leiteiras. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária** [online], v.6, n.10, 2008. Disponível em:<<http://www.revista.inf.br/veterinaria10/revisao/edic-vi-n10-RL56.pdf>>. Acesso em: 19 mar. 2011.

PHILPOT, N.W.; NICKERSON, S.C. **Vencendo a luta contra a mastite**. Piracicaba: Westfalia Surge/Westfalia Landtechnik do Brasil, 2002.

POUTREL B.; LERONDELLE C. Cell content of goat milk: California mastitis test, coulter counter, and fossomatic for predicting half infection. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 66, n. 12, p. 2575-2576, 1983.

RANGEL, A.H.N.; OLIVEIRA, J.P.F.; ARAÚJO, V.M.; BEZERRA, K.C.; MEDEIROS, H.R.; LIMA JUNIOR, D.M.; ARAÚJO, C.G.F. Influência do estágio de lactação sobre a composição do leite de búfalas. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.5, n.3, p.306-310, 2011.

RANUCCI, S. C.; FRUGANTI, G.; VALENTE, C.; TESEI, B.; TULLIO, S. Sul valore diagnostico di alcune prove di laboratorio nella mastite subclinica della bufala. **Selezione Veterinaria**, Brescia, v.29, p.495-506, 1988.

ROCHE, J. R.; PETCH, S.; KAY, J.K. Manipulating the dietary cation-anion difference via drenching to early lactation dairy cows grazing pasture. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.88, p.264-276, 2005.

ROSS, J.G.; SPEARS, J.W.; GARLICH, J.D. Dietary electrolyte balance effects on performance and metabolic characteristics in finishing steers. **J. Anim. Sci**, Champaign, v.72, p.1600-1607, 1994.

RUEGG P.L. Investigation of mastitis problems on farms – Review. **Vet. Clin. N. Am.: Food Anim. Pract.**, v.19, p.47-63, 2003.

SANCHEZ, W.K.; BLAUWIEKEL, R. Prevention of milk fever by application of dietary cation-anion balance concept. **Nutr. Abstr. Rev.**, Aberdeen, v.65, p.147, 1995.

SANCHEZ, W.K.; BEEDE, D.K. Is there an optimal cation-anion difference for lactation diets?. **Animal Feed Science and Technology**, v.59, p.3-12, 1996.

SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. **Estratégias para o controle da mastite e melhoria da qualidade do leite**. Barueri: Manole, 2007.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Agricultura e Abastecimento. **Resolução SAA nº 24 de 01 de agosto, 1994**. Dispõe sobre as normas técnicas de produção e classificação dos produtos de origem animal e as relativas às atividades de fiscalização e inspeção dos produtos de origem animal. Cap.7, Artigo 134, 1994. Disponível em: <<http://www.cda.sp.gov.br/www/legislacoes/popup.php?action=view&idleg=33>>. Acesso em: 13 ago. 2012.

SETTI, M. C.; SCHALCH, E.; ZANETTI, M. A. Estudo do Balanço Cátion-Aniônico da Dieta no Desempenho de Vacas Holandesas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.27, n.6, p.1241-1247, 1998.

SHAHZAD, M. A.; SARWAR, M; NISA, M. Nutrient intake, acid base status and growth performance of growing male buffalo calves fed varying level of dietary cation anion difference. **Livestock Science**, v.111, n.1-2, p.136-143, 2007.

SHAHZAD, M.A.; SARWAR, M.; NISA, M. Influence of altering dietary cation anion difference on milk yield and its composition by early lactating *Nili-Ravi* buffaloes in summer. **Livestock Science**, v. 113, p. 133-143, mar., 2008.

SHAHZAD, M.A.; SHARIF, M.; NISA, M.; SARWAR, M.; FAROOQ, M.; SADDIQI, H.A. Changing certain dietary cation anion minerals: Impact on blood chemistry, milk fever and udder edema in buffaloes during winter. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 10, n. 62, p. 13651-13663, 2011.

SHARIF, M.; SHAHZAD, M. A; NISA, M.; SARWAR, M. Influence of varying levels of dietary cation anion difference on ruminal characteristics, nitrogen metabolism and in situ digestion kinetics in buffalo bulls. **Animal Science Journal**, v. 81, n. 6, p. 657-65, 2010.

SILVA, I.D.; SILVA, K.F.S.T. Total and differential cell counts in buffalo (*Bubalus bubalis*) milk. **Buffalo J.**, v.10, n.2, p.133-137, 1994.

SILVA E.R.; SAUKAS T.N.; ALVES S.F.A.; PINHEIRO R.R. Contagem de células somáticas e California Mastitis Test no diagnóstico da mastite caprina subclínica. **Revista Bras. Med. Vet.**, Rio de Janeiro, v. 18 n. 2 p. 78-83, 1996.

SOUZA, N. H.; FRANZOLIN, R.; SOARES, W. V. B. Metabolismo mineral em bubalinos com ingestão de diferentes níveis de fósforo. **Revista Brasileira de Zootecnia/Journal of Animal Science**, Viçosa, v.38, n.6, p.1149-1154, 2009.

SUTTON, J.D. Altering milk composition by feedind. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.72, n.10, p.2801-2814, 1989.

SWAMINATHAN M.; PARPIA H.A.B. Buffalo Milk: its nutritive value and use in the production of infant foods. **World Rev. Nutr. Diet.** Basel, v.9, p.206-226, 1968.

SWENSON, M.J. **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. 10.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1984.

TAURIAINEN, S. Effect of anion salts on some blood and urine minerals, acid-base balance and udder oedema of dry pregnant cows. **Agric. Food Sci.** Finlandia, v.12, n.5, p.83-93, 2003.

TEIXEIRA, L.V.; BASTIANETTO, E.; OLIVEIRA, D.A.A. Leite de búfala na indústria de produtos lácteos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v.29, n.2, p.96-100, 2005.

TONHATI, H.; MUÑOZ, M.F.C.; OLIVEIRA, J.A.; DUARTE, J.M.C.; FURTADO, T.P.; TSEIMAZIDES, S.P. Parâmetros Genéticos para a Produção de Leite, Gordura e Proteína em Bubalinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.29, n.6, p.2051-2056, 2000.

TRIPALDI, C.; PALOCCI, G.; MIARELLI, M.; CATTÀ, M.; ORLANDINI, S.; AMATISTE, S.; DI BERNARDINI, R.; CATILLO, G. Effects of Mastitis on Buffalo Milk Quality. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Gwanak-gu, v. 23, n. 10, p.1319–1324, 2010.

TUCKER, W.B.; HARRISON, G.A.; HEMKEN, R.W. Influence of dietary cation-anion balance on milk, blood, urine and rumen fluid in lactating dairy cattle. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.71, p.346-354, 1988.

TUCKER, W.B.; HOGUE, J.F.; WATERMAN, D.F.; SWENSON, T.S.; XIN, Z.; HEMKEN, R.W.; JACKSON, J.A.; ADAMS, G.D; SPICER, L.J. Role of sulfur and chloride in dietary cation-anion balance equation for lactating dairy cattle. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.69, n.3, p.1205-1213, 1991.

TUCKER, W. B. et al. Natural sodium sesquicarbonate fed for an entire lactation influence on performance and acid-base status of dairy cows. **J. Dairy Sci., Champaign**, v.7, n.10, p.531-537, 1994.

VAJDI HOKMABAD, R.; FARHOUDI MOGADDAM, M.; MOHAMMAD M.; MIRZAIL, H. Bacterial pathogens of intramammary infections in Azeri buffaloes of Iran and their antibiogram. **African Journal of Agricultural Research**, Nairobi, v. 6, n. 11, p. 2516-2521, 2011.

VAGNONI, D.B.; OETZEL, G.R. Effects of dietary cation-anion difference on the acid-base status of dry cows. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v. 81. p.1643-1652, 1998.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of ruminat.** 2ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994, p.253-280.

VERRUMA, M.R.; SALGADO, J.M. Avaliação Nutricional do leite de búfala em comparação ao leite de vaca. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.50, n.3 p.444-450, 1994.

VIANNI, M.C.E.; N ADER FILHO, A.; ROSSETTI, D.J.G.; L ONGHI, J.L.; SICHER, M. Eficiência do Califórnia Mastitis Test (CMT) na estimativa do número de células somáticas do leite bubalino. **Ciênc. Vet.**, Jaboticabal, v.4, n.2, p.3-4, 1990.

WATERMAN, D.F.; SWENSON, T.S.; TUCKER, W.B.; HEMKEN, R.W. Role of magnesium in the dietary cation-anion balance equation for ruminants. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.74, n.6, p.1866-1873, 1991.

WEST, J.W. Effect of dietary electrolyte balance on performance of lactating dairy cows. **Georgia Nutrition Conference**, 1990. p.92-99.

WEST, J.W.; HAYDON, K.D.; MULLINIX, B.G.; SANDIFER, T.G. Dietary cation-anion balance cation source effects on production and acid-base status of heat-stressed cows. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.75, p.2276-2786, 1992.

WHEELER, W.E. Gastrointestinal tract pH environment and the influence of buffering materials on the performance of ruminants. **J. Anim. Sci.**, Champaign, v.51, n.1, p.224-232, 1980.

WU, W.X.; LIU, J.X.; XU, G.Z.; YE, J.A. Calcium homeostasis, acid-base balance, and health status in periparturient Holstein cows fed diets with low cation-anion difference. **Livestock Science**, v.117, p.7-14, 2008.

ZAVA, M. **El búfalo doméstico**. Buenos Aires: Orientacion, 2011, p.303-399.

ZIA, U.H.; SARWAR, M.; ZAFAR, I.; BILAL, M.Q.; CHATHA, Z.A. Dietary cation-anion balance in the ruminants II – effects during mid-lactation and dry period. **International Journal of Agriculture and Biology**, Faisalabad, v.3, p.143-148, 2001.

CAPÍTULO 3 : Dietas catiônicas com alto balanço cátion-aniônico dietético (BCAD) em diferentes formas de alimentação para búfalas em lactação

CAPÍTULO 3 DIETAS CATIÔNICAS COM ALTO BALANÇO CÁTION-ANIÔNICO DIETÉTICO (BCAD) EM DIFERENTES FORMAS DE ALIMENTAÇÃO PARA BÚFALAS EM LACTAÇÃO

3.1 Introdução

O balanço cátion-aniônico dietético (BCAD) pode interferir no metabolismo e desempenho dos animais (MILES; BUTCHER, 1993). Sua principal ação é na regulação do equilíbrio ácido-base (ROSS; SPEARS; GARLICH, 1994), através da bomba de Na^+ e K^+ (BLOCK, 1994). Poucas pesquisas sobre os efeitos do BCAD na produção e qualidade do leite têm sido realizadas em ruminantes, especialmente em búfalas.

Vacas leiteiras alimentadas com dietas contendo BCAD positivo têm mostrado aumentos na produção de leite (APPER-BOSSARD; PEYRAUD, 2004; APPER-BOSSARD et al., 2006; GANJKHANLOU; NIKKHAH; ZALI, 2010; CORREA et al., 2014), Shahzad, Sarwar e Nisa (2008) observaram fato semelhante em búfalas. Isso ocorre principalmente quando as dietas são altamente positivas. De acordo com Tucker, Harrison e Hemken (1988) com BCAD entre +200 e +375mEq/kg de matéria seca (MS); para Sanchez e Beede (1996) entre +250 e +500mEq/kg de MS. Entretanto, alguns pesquisadores não observaram esses efeitos (BORUCKI CASTRO et al., 2004; CHAN et al., 2005; ROCHE; PETCH; KAY, 2005; HU et al., 2007).

Há indícios que o aumento do BCAD pode influenciar também na composição do leite com aumentos nos teores de gordura e proteína (ROCHE; PETCH; KAY, 2005; HU et al., 2007; SHAHZAD; SARWAR; NISA, 2008; GANJKHANLOU; NIKKHAH; ZALI, 2010). Porém, pesquisas especializadas nessa área não mostraram efeitos do BCAD na composição do leite (CHAN et al., 2005; ROCHE; PETCH; KAY, 2005; SHAHZAD; SARWAR; NISA, 2008; GANJKHANLOU; NIKKHAH; ZALI, 2010).

Assim, o presente experimento objetivou avaliar os efeitos de quatro dietas altamente catiônicas (BCAD de +362, +370, +379, e +390 mEq/kg/MS) em diferentes formas de sistemas de alimentação durante 120 dias de lactação. Os parâmetros avaliados foram a produção diária e qualidade (gordura, lactose, proteína, ST, ESD, acidez, pH, condutividade elétrica e contagem de células somáticas) do leite de dois grupos de búfalas, no início da lactação até 100 dias e após 100 dias no início do experimento.

3.2 Material e Métodos

Durante 120 dias (janeiro a abril de 2013), foi realizado experimento em propriedade rural de bubalinocultura leiteira (região central do Estado de São Paulo, Brasil), com temperatura média de 21,40°C (máxima de 28,70°C e mínima de 14,10°C) e precipitação acumulada de 2.481,36mm (CIIAGRO, 2015), com 350 búfalas em lactação (divididas em dois grupos, 196 búfalas com menos ou igual a 100 dias de lactação e 154 búfalas acima de 100 dias de lactação). Os animais mestiços (raças Murrah, Jafarabadi e Mediterrâneo) e médias de peso vivo de 670 kg, idade média de 6,8 anos com três partos foram mantidos estabulados em sistema intensivo com alimentação em duas vezes ao dia e disponibilidade de água à vontade.

A ingestão de MS foi semelhante para todos os animais (média 21,26/kg animal/dia). Quatro dietas isoprotéicas e isoenergéticas foram formuladas contendo capim mombaça, resíduo de cervejaria, sorgo grão moído, calcário calcítico, fosfato bicálcico, bicarbonato de sódio e suplemento mineral rico em fósforo (Lactage®) para BCAD de +362, +370, +379, e +390 mEq/kg/MS, designadas respectivamente de dieta 1, 2, 3 e 4 (Tabela 3.1). Todas as dietas atenderam às exigências nutricionais foram adequadas para búfalas em lactação de acordo com Kearn (1982), NRC (2001) e Campanile et al. (2007).

Tabela 3.1 – Composição das dietas experimentais para búfalas em lactação, BCAD e divisão das dietas por rendimento de muçarela

Ingredientes	Dietas oferecidas e BCAD			
	1 +362	2 +370	3 +379	4 +390
<i>Panicum maximum</i> Jacq. cv. capim mombaça (%)	62,04	69,75	78,00	87,45
Resíduo de cervejaria (%)	20,46	16,11	11,48	6,13
Sorgo Grãos moídos (%)	15,28	12,07	8,58	4,62
Calcário calcítico (%)	0,78	0,59	0,39	0,16
Fosfato bicálcico (%)	0,15	0,11	0,09	0,08
Suplemento mineral (%)*	0,43	0,45	0,48	0,52
Bicarbonato de Sódio (%)	0,86	0,92	0,98	1,04
Proteína Bruta (%)	12,90	12,43	11,93	11,35
Energia metabolizável (Mcal/kg MS)	2,390	2,373	2,353	2,330

BCAD = Balanço cátion-aniônico dietético em mEq/kg de MS; * = Lactage®

Os tratamentos experimentais foram designados de acordo com fornecimento das quatro dietas associado a diferentes formas de alimentação dos animais com base no rendimento do leite para produção de queijo muçarela conforme equação: rendimento muçarela = $((3,5 \times \% \text{Proteína no leite}) + (1,25 \times \% \text{Gordura no leite})) - 0,088 / 100) \times$

produção de leite (ALTIERO; MOIO; ADDEO, 1989), definidos com base no período anterior de 30 dias. Cada dieta foi fornecida aos grupos de animais conforme o rendimento de muçarela assim definidos: >2,693, 1,795 a 2,692, 0,898 a 1,794 e < 0,897 kg para as dietas 1, 2, 3 e 4, respectivamente (Tabela 3.1). As dietas foram fornecidas em sistema de alimentação alternados constituindo 10 tratamentos experimentais, designados A, B, C, D, E, F, G, H, I e J (Tabela 3.2).

Tabela 3.2 – Tratamentos e número de búfalas nos dois grupos de animais de acordo com o estágio da lactação no início do experimento

Tratamentos	Número de animais em lactação		Períodos experimentais (dias)			
	≤100 dias	>100 dias	30	60	90	120
Dietas						
A	31	15	1	1	1	1
B	21	17	2	2	2	2
C	19	17	3	3	3	3
D	15	15	4	4	4	4
E	24	15	1	2	1	1
F	21	15	1	2	2	2
G	17	15	1	3	1	1
H	18	15	1	3	3	3
I	15	15	1	4	1	1
J	15	15	1	4	4	4
Total	196	154	-	-	-	-

O BCAD foi estimado através de cálculo em mEq de (Na+K)-(Cl+S)/kg/MS com a determinação dos minerais nos ingredientes (BLOCK, 1994). Os teores de sódio (Na), potássio (K), cálcio (Ca), enxofre (S) e magnésio (Mg) dos ingredientes da dieta foram determinados pelo método de preparação de amostra por digestão nítrico/peróxido (KRUG, 2010) e leitura por espectrômetro de emissão (ICP OES-da Baird, modelo ICP 2000, USA e visão radial, com fonte de radio frequência de 40 MHz), já o cloro (Cl) pelo método de titulação (AOAC, 2007).

As análises químicas-bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Metabolismo Ruminal e Bromatologia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA-USP) e a de minerais no Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL). Amostras dos ingredientes foram submetidas às análises da Matéria Seca (MS), extrato etéreo (EE) por Soxhlet, matéria mineral (MM) pela incineração simples (SILVA; QUEIROZ, 2002), proteína bruta (PB) pelo método de micro-Kjeldahl (COMPÊNDIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 1998), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) pelo método ANKOM e as soluções por Van Soest

(1965) descritas por Silva (1990). Os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram estimados através de cálculos usando: %proteína bruta digestível (PBD) + % fibra em detergente neutro verdadeiramente digestível (FDNvD) + % carboidrato não fibroso digestível (CNFD) + 2,25 * % extrato etéreo digestível (EED) (NRC, 2001).

A produção diária do leite foi determinada a cada 7 dias. As amostras de leite das búfalas foram coletadas individualmente da ordenha da manhã (CASSOL; MACHADO, 2006), para análises de gordura, lactose, proteína, sólidos totais (ST), extrato seco desengordurado (ESD) e contagem de células somáticas (CCS) do leite, a cada 30 dias; acidez, pH e condutividade elétrica do leite, a cada 30 dias de 12 animais por tratamento das búfalas com menos ou igual a 100 dias de lactação. Durante o experimento respeitou-se o manejo aplicado na propriedade, com ordenha realizada mecanicamente em sala de ordenha tipo fosso, duas vezes ao dia (5 e 14h) com pré e pós dipping.

As análises da acidez titulável (BRASIL, 2006); pH utilizando pHmêtro portátil Misura line - Hanna Instruments Brasil e condutividade elétrica por condutivímetro portátil digital com computador automático de temperatura gama de 0,0 a 199,9 MS/CM - Multi-range EC Meters foram realizadas no local da ordenha. Enquanto que as determinações de lactose, gordura, proteína, ST, ESD e CCS, CBT foram devidamente encaminhadas ao Laboratório Clínica do Leite da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ-USP). A CCS foi determinada com contadores eletrônicos (Somacount 300®) e as demais com equipamento de infravermelho Bentley 2000.

Análises estatísticas foram realizadas no Grupo de Melhoramento Animal do Departamento de Ciências Básicas da FZEA/USP utilizando o PROC GLM e GLIMMIX do pacote estatístico SAS 9.3 (Statistical Analysis System), seguindo o modelo em delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), com dez tratamentos e diferentes números de repetições (Tabela 3.2). Utilizou-se o SAS/LAB para a verificação das pressuposições do modelo com os valores atípicos retirados dos dados. Quando a homogeneidade das variâncias não foi constatada, utilizou-se o método dos mínimos dos quadrados ponderados pelo inverso das variâncias dos tratamentos. Após a análise de variância as variáveis foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. O modelo incluiu o efeito fixo de tratamento e a possibilidade de inclusão da covariável idade. Realizou-se também análise de cinco contrastes entre os tratamentos: (A+B) vs (C+D); A vs B; C vs D; (A+B+C+D) vs demais; A vs (F+H+J).

3.3 Resultados e Discussão

Os resultados obtidos da produção diária de leite nos dois grupos de búfalas de acordo com o estágio da lactação encontram-se discriminados na Tabela 3.3. Não houve efeito de idade nos tratamentos ($p>0,05$), mas houve diferenças entre os tratamentos, em ambos os grupos de búfalas.

Tabela 3.3 – Produção média diária de leite das búfalas com menos ou igual a 100 dias e acima de 100 dias de lactação conforme os diferentes tratamentos

Tratamentos	Produção de leite diária			
	≤100 dias de lactação		>100 dias de lactação	
	Média	EPM*	Média	EPM*
	kg/animal/dia			
A	12,48 ^{a/A}	0,39	10,89 ^{a/A}	0,54
B	10,53 ^{ab/B}	0,47	9,40 ^{ab/AB}	0,45
C	7,62 ^{c/C}	0,49	7,41 ^{b/B}	0,47
D	5,73 ^{cd/C}	1,08	7,12 ^{b/B}	0,94
E	11,19 ^{ab}	0,44	11,21 ^a	0,66
F	10,41 ^b	0,47	10,36 ^{ab}	0,94
G	10,63 ^{ab}	0,52	10,31 ^{ab}	0,54
H	7,34 ^c	0,51	11,90 ^a	0,66
I	9,2 ^{bc}	0,88	9,88 ^{ab}	0,43
J	4,23 ^d	0,68	9,09 ^{ab}	0,84
Média geral	9,77	0,16	9,72	0,18
Efeito (P) tratamento entre todos	<0,001		<0,001	
Efeito (P) tratamento entre A, B, C e D	<0,001		0,001	
Efeito (P) idade	NS		NS	
Contraste (A+B) vs (C+D) efeito (P)	<0,001		<0,001	
Contraste A vs B efeito (P)	0,002		0,040	
Contraste C vs D efeito (P)	NS		NS	
Contraste (A+B+C+D) vs demais efeito (P)	NS		<0,001	
Contraste A vs (F+H+J) efeito (P)	<0,001		NS	

A = Balanço cátion-aniônico dietético (BCAD) de +362 mEq/kg/MS; B = BCAD de + 370 mEq/kg/MS; C = BCAD de +379 mEq/kg/MS; D = BCAD de +390 mEq/kg/MS; E = 30 dias em dieta +362, seguida de dieta +370 durante mais 30 dias e retorno a dieta +362 por mais 60 dias; F = 30 dias em dieta +362, seguida da dieta +370 durante mais 90 dias; G = 30 dias em dieta +362, seguida de dieta +379 durante mais 30 dias e retorno a dieta +362 por mais 60 dias; H = 30 dias em dieta +362, seguida de dieta +379 durante mais 90 dias; I = 30 dias em dieta +362, seguida de dieta +390 durante mais 30 dias e retorno a dieta +362 por mais 60 dias; J = 30 dias em dieta +362, seguida de dieta +390 durante mais 90 dias; EPM = Erro Padrão da Média; NS = Não Significativo ($p>0,05$); * = Assumindo variâncias iguais para os tratamentos.

Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Médias com letras maiúsculas (A, B, C e D) diferentes na mesma coluna para os tratamentos A, B, C e D diferem pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Para as búfalas com menos ou igual a 100 dias de lactação, observa-se que, entre os tratamentos que não tiveram alterações nas dietas, os animais recebendo o tratamento A (BCAD +362 mEq/kg/MS) apresentaram maior produção de leite (12,48 kg/animal/dia de leite), seguidos do tratamento B (BCAD +370 mEq/kg/MS), enquanto que C e D tiveram baixa produção de leite. Fato semelhante foi verificado com as búfalas acima de 100 dias de

lactação com os tratamentos A e B sendo superiores aos C e D (Tabela 3.3). Assim, observou-se um efeito da genética dos animais sobre as dietas consumidas, já que as búfalas com melhor potencial genético de rendimento de muçarela consumiram as dietas 1 e 2.

A análise de todos os tratamentos mostrou diferenças nos comportamentos dentro de cada grupo de búfala. Nas búfalas com menos ou igual a 100 dias de lactação, notou-se semelhanças entre os tratamentos A, B, E e G, que apresentaram as maiores médias de produção de leite diária, entretanto os três últimos, também foram iguais a F e I. O tratamento I teve média igual a C, D, H e J que foram os piores tratamentos. Já nas búfalas acima de 100 dias de lactação, apenas os tratamentos A, E e H foram superiores aos C e D, indicando que a alteração das dietas produziu efeitos importantes na produção de leite (Tabela 3.3).

Avaliando os resultados obtidos para a produção de leite diária com os contrastes (A+B) vs (C+D) e A vs B, para as búfalas com menos ou igual a 100 e acima de 100 dias de lactação, pode-se afirmar que os melhores tratamentos foram A+B, dentre estes o A foi superior. Já no contraste C vs D não foi significativo para ambos os grupos de búfalas. Para o contraste (A+B+C+D) vs demais, referente a produção de leite diária das búfalas com menos ou igual a 100 dias de lactação, verifica-se que não há efeito significativo, ou seja, realizar a mudança de dieta a cada 30 dias, em função da produção de muçarela, não aumenta a produção de leite dos animais. Assim, este procedimento não é indicado, pois aumenta a mão-de-obra e transtornos com mudança de lote dos animais, podendo levar a diminuição da produção de leite das búfalas, que são sensíveis a mudança de manejo. Mas, para búfalas acima de 100 dias de lactação essa mudança é vantajosa, dependendo do tipo da dieta com melhorias na produção de leite (Tabela 3.3).

No contraste A vs (F+H+J) que compara o tratamento A, que recebeu a dieta 1 durante todo o experimento, com F, H e J, que de 1 a 30 dias receberam a dieta 1, e depois, respectivamente as dietas 2, 3 e 4, observa-se que para búfalas com menos ou igual a 100 dias de lactação, este contraste foi significativo para a produção diária de leite, sendo A o melhor tratamento, já com búfalas acima de 100 dias de lactação isso não ocorreu (Tabela 3.3).

Os resultados obtidos demonstraram efeitos da alteração das dietas na forma de alimentação ao longo do experimento. Alterações envolvendo o uso das dietas 3 e 4 promoveram redução na produção de leite em búfalas abaixo de e igual a 100 dias de lactação, mas não nas búfalas acima de 100 dias.

Outros pesquisadores não observaram aumentos na produção de leite com aumentos nos níveis de BCAD na dieta em vacas, entre eles Chan et al. (2005) usando BCAD positivo, de +20 a +50 mEq/kg/MS; Roche, Petch e Kay (2005) com dietas de +23 a +88

mEq/100g/MS e Borucki Castro et al. (2004) com BCAD positivo. Hu et al. (2007) trabalhando com vacas no pós-parto, testaram duas dietas com BCAD de +220 e +470 mEq/kg de MS, concluindo que BCAD não afetou a produção de leite total, diferente do observado neste experimento, porém, influenciou na composição do leite no que se refere a gordura, proteína, sólidos totais e desengordurado.

Há também autores que verificaram aumento da produção de leite em vacas com aumento do BCAD, como: Tucker, Harrison e Hemken (1988), que forneceram dietas com níveis de BCAD de -10, 0, +10 e +20 mEq/kg/MS, Apper-Bossard e Peyraud (2004) e Apper-Bossard et al. (2006) que administraram dois níveis de concentrado (com 20% e 40% na MS), com três BCAD de 0, +150 e +300 mEq/kg de MS; o segundo autor, indicou que a justificativa para tal efeito seria a ação tamponamento no rúmen, somado a capacidade do BCAD positivo em manter no sangue um equilíbrio ácido-básico.

Resultado também diferente foi descrito por Ganjkanlou, Nikkhah e Zali (2010) em estudo com vacas Holandesas em dietas com BCAD de -130, 0 e +130 mEq/kg de MS (utilizado o cloreto de amônio e sulfato de amônio para correção). A produção de leite e as concentrações de gordura foram aumentadas com o aumento do BCAD, porém a proteína e lactose do leite não foram afetadas. Já Correa et al. (2014) trabalhando com vacas Holandesas, avaliaram dietas com BCAD médios de +155, +289, +410, e +491mEq/kg de MS (sendo o bicarbonato de sódio utilizado para a correção) e notaram aumento da produção de leite com aumento do BCAD. Shahzad, Sarwar e Nisa (2008) observaram fato semelhante em búfalas da raça Nili-Ravi, no Paquistão, recebendo dietas com BCAD de -11, +11, +22 e 33 mEq/100g/MS, em que a produção e a gordura do leite aumentaram linearmente com o aumento do BCAD, enquanto que as proteínas e lactose não foram afetadas.

Analisando a qualidade do leite de búfala referente aos teores de gordura, proteína, lactose e ST, verifica-se que não ocorreu efeito de idade nos tratamentos ($p>0,05$) nas búfalas com menos ou igual a 100 dias (Tabela 3.4) e acima de 100 dias de lactação. Não houve também efeito de tratamento ($p>0,05$) para o teor de gordura, proteína e ST no leite entre os dois grupos de búfalas em lactação (assumindo variâncias iguais para os tratamentos) e para a lactose nas búfalas com mais de 100 dias de lactação (assumindo variâncias iguais para os tratamentos), média dos tratamentos 4,90% e erro padrão da média de 0,02%. As médias dos tratamentos para a gordura foram de 6,07% e 6,87% (erro padrão da média de 0,12%), proteína de 4,31% e 4,47% (erro padrão da média de 0,045%) e ST de 16,23% e 17,20% (erro padrão da média 0,15%), respectivamente para as búfalas com menos ou igual a 100 dias e acima de 100 dias de lactação.

Tabela 3.4 – Teores de gordura, proteína, lactose e sólidos totais (ST) do leite das búfalas com menos ou igual a 100 dias de lactação no início do experimento conforme os diferentes tratamentos

Tratamentos	Parâmetros da qualidade do leite de búfala							
	Gordura (%)		Proteína (%)		Lactose (%)		ST (%)	
	Média	EPM*	Média	EPM*	Média	EPM**	Média	EPM*
A	5,81	0,19	4,29	0,06	5,11 ^{a/A}	0,05	16,07	0,22
B	6,36	0,21	4,29	0,07	5,03 ^{a/A}	0,06	16,60	0,24
C	6,02	0,23	4,30	0,07	5,05 ^{a/A}	0,09	16,06	0,29
D	6,65	0,48	4,25	0,15	3,77 ^{b/B}	0,33	16,20	0,76
E	6,15	0,19	4,27	0,06	5,03 ^a	0,04	16,35	0,22
F	6,07	0,21	4,39	0,07	5,03 ^a	0,06	16,43	0,24
G	5,85	0,23	4,27	0,07	5,02 ^a	0,04	16,02	0,26
H	5,97	0,22	4,31	0,07	5,19 ^a	0,02	16,12	0,25
I	6,40	0,39	4,23	0,12	4,98 ^a	0,10	16,46	0,44
J	6,07	0,30	4,49	0,09	4,87 ^{ab}	0,18	15,89	0,36
Média geral	6,07	0,07	4,31	0,02	5,03	0,02	16,23	0,08
Efeito (P) de tratamento entre todos	NS		NS		<0,001		NS	
Efeito de (P) tratamento entre A, B, C e D	NS		NS		0,002		NS	
Efeito (P) Idade	NS		NS		NS		NS	
Contraste (A+B) vs (C+D) efeito (P)	NS		NS		0,0003		NS	
Contraste A vs B efeito (P)	NS		NS		NS		NS	
Contraste C vs D efeito (P)	NS		NS		0,0003		NS	
Contraste (A+B+C+D) vs demais efeito (P)	NS		NS		0,004		NS	
Contraste A vs (F+H+J) efeito (P)	NS		NS		NS		NS	

A = Balanço cátion-aniônico dietético (BCAD) de +362 mEq/kg/MS; B = BCAD de + 370 mEq/kg/MS; C = BCAD de +379 mEq/kg/MS; D = BCAD de +390 mEq/kg/MS; E = 30 dias em dieta +362, seguida de dieta +370 durante mais 30 dias e retorno a dieta +362 por mais 60 dias; F = 30 dias em dieta +362, seguida da dieta +370 durante mais 90 dias; G = 30 dias em dieta +362, seguida de dieta +379 durante mais 30 dias e retorno a dieta +362 por mais 60 dias; H = 30 dias em dieta +362, seguida de dieta +379 durante mais 90 dias; I = 30 dias em dieta +362, seguida de dieta +390 durante mais 30 dias e retorno a dieta +362 por mais 60 dias; J = 30 dias em dieta +362, seguida de dieta +390 durante mais 90 dias; ST = Sólidos totais; EPM = Erro Padrão da Média; NS = Não Significativo ($p > 0,05$); * = Assumindo variâncias iguais para os tratamentos; ** = Assumindo variâncias diferentes para os tratamentos.

Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Medias com letras maiúsculas (A, B, C e D) diferentes na mesma coluna para os tratamentos A, B, C e D diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Para o teor de lactose do leite das búfalas com menos ou igual a 100 dias de lactação houve efeito de tratamento. Comparando somente os tratamentos que mantiveram a mesma dieta, os tratamentos A, B e C foram iguais entre si e superiores a D. Comparando todos tratamentos, os que apresentaram maiores médias foram A, B, C, E, F, G, H, I e J, que também foram iguais entre si. Já o tratamento J foi semelhante ao D com a menor média de 4,87 %, ou seja, o BCAD positivo influenciou no teor de lactose do leite, sendo maior no BCAD menor (Tabela 3.4).

Estes resultados vão ao encontro dos descritos por West et al. (1992) e Chan et al. (2005) que concluíram que a gordura e a proteína do leite não aumentam com aumento do BCAD. Roche, Petch e Kay (2005) não verificaram alteração na proteína do leite. Shahzad,

Sarwar e Nisa (2008) em leite de búfala e Ganjkanlou, Nikkhah e Zali (2010) no leite de vaca, concluíram que a proteína e a lactose não foram afetadas pelo BCAD, resultado semelhante ao observado neste experimento, com exceção da lactose em búfalas ≤ 100 dias de lactação, que foi influenciando pelo BCAD.

Corroborando com os resultados obtidos sobre a qualidade do leite, Correa et al. (2006) avaliaram em vacas Holandesas em lactação, dietas catiônicas (+150, +250, +400 e +500 mEq kg de MS), utilizando o bicarbonato de sódio para correção, e observaram que não houve alteração na porcentagem de gordura do leite, mas o pH do leite aumentou linearmente e a acidez apresentou resposta cúbica com o aumento do BCAD.

Há pesquisadores como Roche, Petch e Kay (2005), Krzywiecki et al. (2005), Ganjkanlou, Nikkhah e Zali (2010), que afirmam o contrário do que foi observado, em que o BCAD leva a um aumento do teor de gordura no leite, e segundo Shahzad, Sarwar e Nisa, (2008) inclusive no leite de búfalas. Já o aumento da gordura e proteína foi observado por Waterman et al. (1991) e Hu et al. (2007) observaram que o BCAD afetou a gordura, proteína, sólidos totais e desengordurado no leite de vacas, discordado dos resultados encontrados neste experimento.

Estudando o contraste (A+B) vs (C+D) para as búfalas com menos ou igual a 100 dias e acima de 100 dias de lactação, não houve efeitos para a gordura, proteína, lactose e ST, com exceção da lactose para as búfalas ≤ 100 dias de lactação, em que o contraste A+B foi superior a C+D, porém, para A vs B não houve efeito algum. Já para C vs D, existe efeito apenas para a lactose nas búfalas com menos ou igual a 100 dias de lactação, em que B foi superior a D. Para (A+B+C+D) vs demais, somente houve efeito significativo para a lactose nas búfalas com menos ou igual a 100 dias de lactação (Tabela 3. 4).

Para as médias dos teores de ESD e CCS não houve efeito da idade nos tratamentos, e nem entre os tratamentos ($p>0,05$) em ambos os grupos para as búfalas com menos ou igual a 100 dias (assumindo variâncias diferentes para os tratamentos) e acima de 100 dias de lactação (assumindo variâncias iguais para os tratamentos), com médias respectivas para o ESD de 10,31% e 10,28% e CCS de 114 e 186 mil células/mL. Hu et al. (2007) obtiveram efeitos apenas para o ESD.

Os contrastes (A+B) vs (C+D), A vs B, C vs D, (A+B+C+D) vs demais e A vs (F+H+J) para o ESD e CCS não foram significativos para ambos os grupos de búfalas, exceto no contraste A vs B com relação a CCS para as búfalas acima de 100 dias de lactação, em que o tratamento A foi o melhor que B e para a o contraste A vs (F+H+J) para a CCS nas búfalas com menos ou igual a 100 dias e acima de 100 dias de lactação, no qual o tratamento A foi

melhor. Não houve diferenças significativas entre os tratamentos no pH, acidez titulável e condutividade elétrica no leite das búfalas com menos ou igual a 100 dias de lactação, diferentemente do observado com o pH por Correa et al. (2006) (Tabela 3.5). Os tratamentos D, E e J produziram maiores valores médios de acidez titulável no leite (médias de 21,00, 20,20 e 21,00 °D, respectivamente) que o tratamento G (16,33 °D) e foram semelhantes aos demais.

Tabela 3.5 – Valores de pH, acidez titulável e condutividades elétrica do leite das búfalas com menos ou igual a 100 dias de lactação conforme os diferentes tratamentos

Tratamentos	Qualidade do leite de búfala					
	pH		Acidez Titulável (°D)		Cond. Elétrica	
	Média	EPM*	Média	EPM*	Média	EPM**
A	6,70	0,03	18,37 ^{ab}	0,54	3,22 ^{bc/B}	0,09
B	6,57	0,04	18,80 ^{ab}	0,68	3,37 ^{b/B}	0,06
C	6,65	0,05	19,00 ^{ab}	0,76	3,22 ^{bc/B}	0,06
D	6,62	0,06	21,00 ^a	0,88	4,25 ^{a/A}	0,02
E	6,60	0,04	20,20 ^a	0,68	3,29 ^{bc}	0,13
F	6,69	0,05	17,00 ^{ab}	0,88	3,04 ^c	0,02
G	6,68	0,06	16,33 ^b	0,88	3,20 ^{bc}	0,10
H	6,61	0,05	18,25 ^{ab}	0,76	3,19 ^{bc}	0,09
I	6,73	0,06	18,00 ^{ab}	0,76	3,31 ^{bc}	0,17
J	6,52	0,06	21,00 ^a	0,88	4,27 ^a	0,004
Média geral	6,64	0,02	18,78	0,24	3,39	0,06
Efeito (P) tratamento entre todos	NS		0,0047		<0,001	
Efeito (P) tratamento entre A, B, C e D	NS		NS		<0,001	
Efeito (P) idade	NS		NS		0,002	
Contraste (A+B) vs (C+D) efeito (P)	NS		NS		<0,001	
Contraste A vs B efeito (P)	0,030		NS		NS	
Contraste C vs D efeito (P)	NS		NS		<0,001	
Contraste (A+B+C+D) vs demais efeito (P)	NS		NS		0,019	
Contraste A vs (F+H +J) efeito (P)	NS		NS		0,008	

A = Balanço cátion-aniônico dietético (BCAD) de +362 mEq/kg/MS; B = BCAD de + 370 mEq/kg/MS; C = BCAD de +379 mEq/kg/MS; D = BCAD de +390 mEq/kg/MS; E = 30 dias em dieta +362, seguida de dieta +370 durante mais 30 dias e retorno a dieta +362 por mais 60 dias; F = 30 dias em dieta +362, seguida da dieta +370 durante mais 90 dias; G = 30 dias em dieta +362, seguida de dieta +379 durante mais 30 dias e retorno a dieta +362 por mais 60 dias; H = 30 dias em dieta +362, seguida de dieta +379 durante mais 90 dias; I = 30 dias em dieta +362, seguida de dieta +390 durante mais 30 dias e retorno a dieta +362 por mais 60 dias; J = 30 dias em dieta +362, seguida de dieta +390 durante mais 90 dias; EPM = Erro Padrão da Média; NS = Não Significativo ($p>0,05$); * = Assumindo variâncias iguais para os tratamentos; ** = Assumindo variâncias diferentes para os tratamentos.

Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Medias com letras maiúsculas (A, B, C e D) diferentes na mesma coluna para os tratamentos A, B, C e D diferem pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

3.4 Conclusão

A forma do sistema de alimentação com alteração das dietas contendo diferentes BCAD a cada 30 dias não produz efeitos na produção e qualidade do leite em búfalas no

estágio inicial da lactação, porém aumenta a produção de leite em búfalas acima de 100 dias de lactação.

Referências

- ALTIERO, V.; MOIO, L.; ADDEO, F. Previsione della resa in mozzarella sulla base del contenuto in grasso e proteine del latte di bufala. *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia*, v.40, p.425-433, 1989.
- APPER-BOSSARD, E.; PEYRAUD, J.L. Dietary cation-anion difference could enhance acid-base status of lactating dairy cows submit to a subacidosis. **J. Anim. Feed Sci.**, v.13, p.27-30, 2004.
- APPER-BOSSARD, E.; PEYRAUD, J. L.; FAVERDIN, P.; MESCHY, F. Changing Dietary Cation-Anion Difference for Dairy Cows Fed with Two Contrasting Levels of Concentrate in Diets. **J. Dairy Sci.** v. 89, p.749-760, 2006.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis**. 18th.ed. Gaithersburg, 2005 revision, 2007. Chap. 4, p.8.
- BLOCK, E. Manipulation of dietary cation-anion difference on nutritionally related production diseases, productivity, and metabolic responses of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.7, n.5, p.1437-1450, 1994.
- BORUCKI CASTRO, S.I.; PHILLIP, L.E.; GIRARD, V.; TREMBLAY, A. Altering dietary cation-anion difference in lactating dairy cows to reduce phosphorus excretion to the environment. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.87, p.1751-1757, 2004.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa n° 68, de 12 de dezembro de 2006. Dispõe sobre os métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. **Diário Oficial da União**, Brasília, 14 dez. 2006, Seção 1, p. 8.
- CAMPANILE, G.; BERNARDES, O.; BASTIANETTO, E.; BARUSELLI, P.S.; ZICARELLI, L.; VECCHIO, D. Manejo de Búfalas Leiteiras. **Buffalo Tec. Associação Brasileira de Criadores de Búfalos**. 74p, 2007.
- CASSOL, L.D.; MACHADO, P.F. **Manual de Instruções para Coleta e envio de Amostras de Leite para Análise**. Laboratório Clínica do Leite da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ-USP), Piracicaba, 2006.
- CHAN, P.S.; WEST, J.W.; BERNARD, J.K.; FERNANDEZ, M. Effects of dietary cation-anion difference on intake, milk yield, and blood components of the early lactation cow. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.88, p.4384-4392, 2005.
- CIIAGRO. **Portal Agrometeorológico e Hidrológico do Estado de São Paulo**. Disponível em: <http://www.ciiagro.org.br/diario/cperiodo>. Acesso em: 16 mar. 2015.

COMPÊNDIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL. **In: Métodos Analíticos.** ANFAR, SINDIRAÇÕES, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, Colégio Brasileiro de Nutrição Animal. São Paulo, p.11, 1998.

CORREA, L. B.; ZANETTI, M. A.; DEL CLARO, G. R.; PAIVA, F. A. D.; ELMOR, L. D. Balanço cátion-aniônico da dieta na composição do leite. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.5, p.1589-1593, 2006.

CORREA, L.B.; ZANETTI, M.A.; SARAN NETTO, A.; DEL CLARO, G.R.; PAIVA, F.A.; MARTINS, P.G.M.A. Effects of supplemental dietary sodium bicarbonate on performance of lactating Holstein cows during the summer season in Brazil. **Livestock Science**, v.169, p.78-82, 2014.

GANJKHANLOU, M.; NIKKHAH, A.; ZALI, A. Effect of dietary cation-anion balance on milk production and blood mineral of Holstein cows during the last two months of pregnancy. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v.9, n.36, p.5983-5988, 2010.

HU, W.; MURPHY, M.R.; CONSTABLE, P.D.; BLOCK, E. Dietary cation-anion difference effects on performance and acid-base status of dairy cows postpartum. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n.7, p.3367-75, 2007.

KEARL, L.C. **Nutrient requirements of ruminant in development countries.** Logan: Utah State University, 1982.

KRUG, F.J. **Métodos de preparo de amostras; fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar.** Editado por Francisco José Krug, 1 ed. Piracicaba, 2010, 340 f.

KRZYWIECKI, S.; BODARSKI, R.; PRES, J.; LUCZAK, W. The relationship between cation-anion differences in dairy cow diets and some blood indices levels and milk composition. **J. Anim. Feed Sci.**, Poland, v.14, p.271-274, 2005.

MILES, R.; BUTCHER, G. Equilíbrio ácido-base I: princípios básicos. **Indústria avícola**, p.21-24, 1993.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrients requirements of dairy cattle.** 7. ed. Washington, D.C. National Academy of Sciences, 2001.

ROCHE, J. R.; PETCH, S.; KAY, J.K. Manipulating the dietary cation-anion difference via drenching to early lactation dairy cows grazing pasture. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.88, p.264-276, 2005.

ROSS, J.G.; SPEARS, J.W.; GARLICH, J.D. Dietary electrolyte balance effects on performance and metabolic characteristics in finishing steers. **J. Anim. Sci**, Champaign, v.72, p.1600-1607, 1994.

SANCHEZ, W.K.; BEEDE, D.K.. Is there an optimal cation-anion difference for lactation diets?. **Animal Feed Science and Technology**, v.59, p.3-12, 1996.

SHAHZAD, M.A.; SARWAR, M.; NISA, M. Influence of altering dietary cation anion difference on milk yield and its composition by early lactating *Nili Ravi* buffaloes in summer. **Livestock Science**, v.113, p.133-143, mar., 2008.

SILVA, D.J. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. Viçosa: UFV, 1990.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análises de alimentos: Métodos químicos e biológicos**, ed. 3, UFV, Viçosa, 2002.

TUCKER, W.B.; HARRISON, G.A.; HEMKEN, R.W. Influence of dietary cation-anion balance on milk, blood, urine and rumen fluid in lactating dairy cattle. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.71, p.346-354, 1988.

WATERMAN, D.F.; SWENSON, T.S.; TUCKER, W.B.; HEMKEN, R.W. Role of magnesium in the dietary cation-anion balance equation for ruminants. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.74, n.6, p.1866-1873, 1991.

WEST, J.W.; HAYDON, K.D.; MULLINIX, B.G.; SANDIFER, T.G. Dietary cation-anion balance cation source effects on production and acid-base status of heat-stressed cows. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.75, p.2276-2786, 1992.

CAPÍTULO 4 : Avaliação de dietas catiônicas com baixo balanço cátion-aniônico dietético (BCAD) na produção e qualidade do leite de búfala

CAPÍTULO 4 AVALIAÇÃO DE DIETAS CATIÔNICAS COM BAIXO BALANÇO CÁTION-ANIÔNICO DIETÉTICO (BCAD) NA PRODUÇÃO E QUALIDADE DO LEITE DE BÚFALA

4.1 Introdução

O balanço cátion-aniônico dietético (BCAD) pode exercer efeito sobre a lactação. Trabalhos apontam que vacas leiteiras alimentadas com dieta contendo o BCAD positivo (dieta catiônica) aumentam a produção de leite (APPER-BOSSARD et al., 2006; GANJKHANLOU; NIKKHAH; ZALI, 2010; CORREA et al., 2014), bem como búfalas em lactação (SHAHZAD; SARWAR; NISA, 2008).

Isso ocorre segundo Ross, Spears e Garlich, (1994), devido à ação do BCAD no equilíbrio ácido-base dos animais que de acordo com Block (1994), durante a lactação, vacas apresentam altas taxas metabólicas (ambiente celular tende a tornar-se ácido), sendo necessário fornecer dietas altamente catiônicas (maiores níveis de Na e K em relação Cl e S), os quais promovem efeitos alcalinogênicos. Entretanto, pesquisadores não têm observado esses efeitos na produção do leite (BORUCKI CASTRO et al., 2004; CHAN et al., 2005; ROCHE; PETCH; KAY, 2005; HU et al., 2007). Alguns autores verificaram que o aumento do BCAD promove elevação dos teores de gordura (ROCHE; PETCH; KAY, 2005; KRZYWIECKI et al., 2005; SHAHZAD; SARWAR; NISA, 2008; GANJKHANLOU; NIKKHAH; ZALI, 2010) e proteína do leite (WATERMAN et al., 1991; HU et al., 2007). Outros, porém não observaram efeitos do BCAD sobre a composição do leite de vaca (CHAN et al., 2005; ROCHE; PETCH; KAY, 2005; GANJKHANLOU; NIKKHAH; ZALI, 2010) e em leite de búfala (SHAHZAD; SARWAR; NISA, 2008).

O presente experimento teve objetivo de estudar a campo, durante 90 dias, quatro tratamentos, composto de duas dietas catiônicas, com BCAD baixo, chamadas de dieta D121 (BCAD +121 mEq/kg/MS) e dieta D164 (+164 mEq/kg/MS), formando os seguintes tratamentos A (D121 durante 90 dias), B (D121 durante os primeiros 60 dias e a D164 nos últimos 30 dias), C (D164 durante 90 dias) e D (D164 durante os primeiros 60 dias e a D121 nos últimos 30 dias) sobre a produção e qualidade do leite de búfala (gordura, lactose, proteína, sólidos totais, extrato seco desengordurado, acidez, pH, condutividade elétrica e contagem de células somáticas).

4.2 Material e Métodos

O experimento foi realizado em propriedade rural de criação de búfalas leiteiras da região central do Estado de São Paulo, Brasil, durante 90 dias, de maio a julho de 2013, com temperatura média de 18,05°C (máxima de 25,42°C e mínima de 10,68°C) e precipitação acumulada de 204,23mm (CIIAGRO, 2015). Foram utilizadas 297 búfalas mestiças das raças Murrah, Jafarabadi e Mediterrâneo, com peso médio 670 kg, idade média de 6,8 anos e três partos. Os animais foram divididos em dois grupos de acordo com a fase de lactação, sendo 86 búfalas com menos de 100 dias de lactação e 211 búfalas entre 100 a 220 dias de lactação, designados G<100 e G>100, respectivamente. Os animais foram mantidos em regime fechado, em instalações adequadas com cochos, bebedouros com água à vontade e ventiladores climatizadores.

Duas rações foram formuladas utilizando-se de silagem de sorgo, resíduo de cervejaria e concentrado (milho em grãos moídos, calcário calcítico, fosfato bicalcico, bicarbonato de sódio e suplemento mineral rico em fósforo), sendo isoprotéicas (9,3% de PB) e isoenergéticas (2,73 Mcal EM/Kg MS). A dieta designada D121 apresentou BCAD +121 mEq/kg/MS (65,03% de silagem de sorgo, 19,17% de resíduo de cervejaria e 15,80% de concentrado, contendo 0,40% de suplemento mineral (Lactage®) e 0,81% de bicarbonato de sódio) e a dieta D164, constituía de BACD +164 mEq/kg/MS (78,27% de silagem de sorgo, 11,54% de resíduo de cervejaria e 10,19% de concentrado, com 0,49% de suplemento mineral (Lactage®) e 0,97% de bicarbonato de sódio). Em todas as dietas as exigências nutricionais foram adequadas para búfalas em lactação de acordo com Kearn (1982), NRC (2001) e Campanile et al. (2007).

Quatro tratamentos foram definidos em função das duas dietas formuladas e o sistema de alimentação ao longo dos 90 dias experimentais. Assim, 17 e 70 búfalas dos grupos G<100 e G>100, respectivamente receberam tratamento A com D121 durante 90 dias; 15 búfalas de cada grupo receberam tratamento B com D121 durante os primeiros 60 dias e a D164 nos últimos 30 dias; 25 e 66 búfalas dos grupos G<100 e G>100, respectivamente receberam tratamento C com D164 durante 90 dias; 29 e 60 búfalas dos grupos G<100 e G>100, respectivamente receberam tratamento D com D164 durante os primeiros 60 dias e a D121 nos últimos 30 dias. O fornecimento das dietas foi oferecida em duas vezes ao dia, de acordo com a produção de leite diária dos 30 dias que antecederam o experimento, sendo realizada nova adequação a cada 30 dias. Assim, búfalas com produção média de leite diária

acima de 7,6 kg receberam os tratamentos A e B e búfalas com produção média abaixo de 7,6 kg/dia receberam os tratamentos C e D.

Os parâmetros avaliados foram a produção diária do leite, teores de gordura, lactose, proteína, sólidos totais (ST), extrato seco desengordurado (ESD) e contagem de células somáticas (CCS) do leite (a cada 30 dias); acidez titulável, pH e condutividade elétrica do leite (a cada 30 dias de 20 animais por tratamento). As amostras de leite de búfala foram coletadas individualmente da ordenha da manhã, realizada mecanicamente em fosso, duas vezes ao dia, com pré e pós dipping.

As análises das amostras foram realizadas no Laboratório de Metabolismo Ruminal e de Bromatologia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA-USP) e os minerais no Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL). O BCAD da dieta foi estimado pela equação $(Na+K)-(Cl+S)$ em mEq/kg de MS (BLOCK, 1994), determinado os níveis de sódio (Na), potássio (K), cálcio (Ca), enxofre (S) e magnésio (Mg), pelo método de método de preparação de amostra por digestão nítrico/peróxido (KRUG, 2010) e leitura por espectrômetro de emissão (ICP OES-da Baird, modelo ICP 2000, USA e visão radial, com fonte de radio frequência de 40 MHz), já o cloro (Cl) pelo método de titulação (AOAC, 2007).

Nos ingredientes das rações foram determinadas a matéria seca (MS), extrato etéreo (EE), por Soxhlet, matéria Mineral (MM) pela incineração simples (SILVA; QUEIROZ, 2002), proteína bruta (PB) método de micro-Kjeldahl (COMPÊNDIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 1998), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) método ANKOM e as soluções por Van Soest (1965) descritas por Silva (1990), já os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram calculados pela fórmula: %proteína bruta digestível (PBD) + % fibra em detergente neutro verdadeiramente digestível (FDNvD) + % carboidrato não fibroso digestível (CNFD) + $2,25 * \% \text{ extrato etéreo digestível (EED)}$ (NRC, 2001).

A análise no leite realizadas a campo foram acidez titulável (BRASIL, 2006), pH, utilizando pHmêtro portátil Misura line - Hanna Instruments, Brasil e condutividade elétrica, por condutivimetro portátil digital com computador automático de temperatura gama de 0,0 a 199,9 MS/CM - Multi-range EC Meters. A determinação da lactose, gordura, proteína, ST, ESD e CCS foram realizadas no Laboratório Clínica do Leite da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ-USP), utilizando equipamento de infravermelho Bentley 2000, exceto para a CCS que foi o contador eletrônico Somacount 300®.

Análises estatísticas foram realizadas no Grupo de Melhoramento Animal do Departamento de Ciências Básicas da FZEA/USP utilizando o PROC GLM e GLIMMIX do pacote estatístico SAS 9.3 (Statistical Analysis System), seguindo o modelo em delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos e diferentes números de repetições (numero de animais). Utilizou-se o SAS/LAB para a verificação das pressuposições do modelo com os valores atípicos retirados dos dados. Quando a homogeneidade das variâncias não foi constatada, utilizou-se o método dos mínimos dos quadrados ponderados pelo inverso das variâncias dos tratamentos. Após a análise de variância as variáveis foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. O modelo incluiu o efeito fixo de tratamento e a possibilidade de inclusão da covariável idade. Realizou-se também análise dos contrastes (A+C) vs (B+D), A vs C e B vs D.

4.3 Resultados e Discussão

A ingestão de matéria seca estimada pelas pesagens dos alimentos fornecidos nos lotes dos animais foi de 22,66 kg/animal/dia. Os valores médios da produção diária de leite das búfalas com menos 100 e com 100 a 220 dias de lactação estão apresentados na Tabela 4.1. Não houve efeito da idade nos tratamentos, porém sim entre os tratamentos. Para as búfalas com menos de 100 dias de lactação, os melhores tratamentos foram A e D, com médias respectivas de 12,80 e 14,15 kg/animal/dia de leite e ambos se diferenciaram dos demais. O tratamento C produziu a menor produção média de leite (5,11 kg/animal/dia). Já nas búfalas de 100 a 220 dias de lactação, todos os tratamentos diferiram entre si. As búfalas que receberam o tratamento A apresentaram melhor produção média de leite (13,68 kg/animal/dia), seguido dos tratamentos D, B e C. As médias gerais foram de 10,53 e 10,61 kg/animal/dia de leite, para as búfalas com menos de <100 e de 100 a 220 dias de lactação, respectivamente (Tabela 4.1).

Na análise de contrastes houve efeito significativo para as búfalas <100 e de 100 a 220 dias de lactação no contraste A vs C, que são os tratamentos que não foram modificados a cada 30 dias, conforme produção de leite do período anterior, com superioridade do tratamento A. Diante destes resultados, pode-se inferir que o BCAD influenciou na produção de leite das búfalas, entretanto o BCAD mais baixo obteve melhor resultado.

Para búfalas com menos de 100 dias de lactação houve efeito do contraste (A+C) vs (B+D). Nesse caso é feita a comparação dos tratamentos que não sofreram modificação da dieta a cada 30 dias, de acordo com a produção de leite do período anterior, com aqueles que

foram alterados. Os melhores foram os tratamentos B+D, demonstrando que a produção de leite diária das búfalas foi maior no grupo que teve sua dieta alterada a cada 30 dias em função da produção de leite. Ao analisarmos o contraste B vs D para as búfalas <100 e de 100 a 220 dias de lactação, o tratamento D foi superior ao B, mostrando que a mudança de alimentação ocorrida em D (saiu de um BCAD de +164 mEq/kg/MS para +121 mEq/kg/MS) promoveu a maior produção média de leite.

Tabela 4.1 – Produção média diária de leite das búfalas com menos de 100 dias e de 100 a 200 dias de lactação conforme os diferentes tratamentos

Tratamentos	Produção de leite diária			
	<100 dias lactação		100 a 200 dias lactação	
	Média	EPM**	Média	EPM**
	kg/animal/dia			
A	12,80 ^a	0,71	13,68 ^a	0,33
B	7,57 ^b	0,19	7,70 ^c	0,45
C	5,11 ^c	0,23	4,73 ^d	0,28
D	14,15 ^a	0,80	10,80 ^b	0,44
Média geral	10,53	0,35	10,61	0,21
Efeito (P) tratamento	<0,001		<0,001	
Efeito (P) idade	NS		NS	
Contraste (A+C) vs (B+D) efeito (P)	0,001		NS	
Contraste A vs C efeito (P)	<0,001		<0,001	
Contraste B vs D efeito (P)	<0,001		<0,001	

A = Balanço cátion-aniônico dietético (BCAD) de +121 mEq/kg/MS (D121) durante 90 dias; B = 121 mEq/kg/MS durante os primeiros 60 dias e a 164 mEq/kg/MS (D164) nos últimos 30 dias; C = BCAD +164 mEq/kg/MS durante 90 dias; D = 164 mEq/kg/MS durante os primeiros 60 dias e a 121 mEq/kg/MS nos últimos 30 dias; EPM = Erro Padrão da Média; NS = Não Significativo ($p>0,05$); ** = Assumindo variâncias diferentes para os tratamentos.

Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Assim, esse sistema de alimentação designado pelo tratamento D pode ser uma boa alternativa para o produtor rural, embora possa promover transtornos no sistema de produção com aumento da mão-de-obra e no manejo dos animais, mas melhora a produção de leite e diminui os custos de produção com a alimentação (redução dos níveis de concentrado ao longo do período experimental), dando condições às búfalas de expressarem seu potencial de produção leiteira com a dieta adequada, porém, este fato não ocorreu com búfalas de 100 a 220 dias de lactação (Tabela 4.1).

Estes resultados vão ao encontro com as pesquisas feitas por Borucki Castro et al. (2004) e Chan et al. (2005) que avaliaram vacas em lactação e verificaram que o aumento do BCAD positivo não aumenta a produção de leite. Neste último trabalho foi observado ainda que a gordura e proteína do leite também não sofreram influências dos tratamentos. Roche,

Petch e Kay (2005) confirmaram este fato ao avaliarem dietas com BCAD entre +23 a +88 mEq/100g/ MS em vacas, além disso, afirmaram que o BCAD positivo não aumenta o teor de proteína do leite, mas aumenta a os teores de gordura. Hu e Murphy (2004) avaliaram estudos realizados entre 1984 e 1997 sobre o BCAD e produção de leite e constataram que BCAD afeta o desempenho de vacas leiteiras em lactação, resultado constatado neste experimento, sendo observado o rendimento máximo de leite com BCAD de +34 mEq/100g de MS.

Diferente do que foi observado neste trabalho Hu et al. (2007) pesquisando em vacas no pós-parto duas dietas com BCAD de +220 e +470 mEq/kg de MS, verificaram que o BCAD não afetou a produção de leite, mas influenciou na produção de leite corrigida pelo teor de gordura e na composição do leite, como a gordura, proteína, sólidos totais e desengordurado.

Outros autores apresentaram resultados diferentes, como Block (1994), que observou que dietas catiônicas aumentaram a IMS, produção de leite com redução dos efeitos do estresse pelo calor com maiores valores de BCAD. Tucker, Harrison e Hemken (1988) concluíram que a produção de leite é aumentada com aumento do BCAD em vacas, após estudo com dietas contendo BCAD de -10, 0, +10 e +20 mEq/kg/MS. Já Apper-Bossard e Peyraud (2004) e Apper-Bossard et al. (2006) com dietas contendo dois níveis de concentrado (com 20% e 40% na MS) e três BCAD de 0, +150 e +300 mEq/kg de MS, constataram que o consumo de ração e a produção de leite corrigida pela gordura foi aumentada com o aumento BCAD, e que as respostas foram maiores com dieta contendo 40% na MS de concentrado.

Nesta mesma linha de conclusões Ganjkanlou, Nikkhah e Zali (2010) em estudo com vacas Holandesas e dietas com BCAD de -130, 0 e +130 mEq/kg de MS observaram que a produção de leite e as concentrações de gordura foram aumentadas com o aumento do BCAD. Entretanto, a proteína e a lactose do leite não foram afetadas pelo BCAD, resultado divergente do encontrado neste experimento.

Correa et al. (2014) trabalhando com vacas Holandesas, avaliaram quatro dietas BCAD de +155, +289, +410 e +491mEq/kg de MS (sendo o bicarbonato de sódio utilizado para a correção do BCAD) e observaram que com aumento do BCAD aumentou a IMS e produção de leite. Citaram que estudos com diferentes concentrações com BCAD devem ser realizados visando a determinação do BCAD ideal para IMS e produção de leite máxima. Em búfalas da raça Nili-Ravi no Paquistão, Shahzad, Sarwar e Nisa (2008) verificaram efeitos de diferentes níveis de BCAD de -11, +11, +22 e 33 mEq/100 g de MS sobre a produção e

composição do leite no início da lactação, diferentemente destes resultados. Observaram ainda que produção e gordura do leite aumentaram linearmente com o aumento do BCAD, enquanto que as proteínas do leite e do teor de lactose não foram afetadas.

Analisando a qualidade do leite de búfala quanto aos teores de gordura, proteína e lactose (Tabela 4.2) não houve efeito de idade das búfalas <100 e de 100 a 200 dias de lactação, exceto para a lactose no leite das búfalas de 100 a 220 dias de lactação, em que o tratamento A e D foram iguais e obtiveram maiores médias, respectivamente, de 5,00% e 5,05%, entretanto, o tratamento D foi semelhante ao B e este por sua vez foi igual ao C. Já nas búfalas de <100 dias de lactação os tratamentos A e D também tiveram as maiores médias (Tabela 4.2).

Tabela 4.2 – Teores de gordura, proteína e lactose do leite das búfalas com menos de 100 dias e de 100 a 200 dias de lactação conforme os diferentes tratamentos

Búfalas com menos de 100 dias de lactação						
Tratamentos	Qualidade do leite de búfala					
	Gordura (%)		Proteína (%)		Lactose (%)	
	Média	EPM*	Média	EPM*	Média	EPM**
A	7,58 ^a	0,39	4,39 ^{bc}	0,11	5,02 ^a	0,05
B	9,21 ^a	0,60	5,03 ^a	0,18	4,67 ^{bc}	0,11
C	8,41 ^a	0,29	4,63 ^{ab}	0,09	4,64 ^c	0,07
D	6,20 ^b	0,30	4,29 ^c	0,09	4,99 ^{ab}	0,05
Média geral	7,55	0,18	4,49	0,05	4,85	0,03
Efeito(P) tratamento	<0,001		0,001		<0,001	
Efeito (P) idade	NS		NS		NS	
Contraste (A+C) vs (B+D) efeito (P)	NS		NS		NS	
Contraste A vs C efeito (P)	NS		NS		<0,001	
Contraste B vs D efeito (P)	<0,001		0,0003		0,01	
Búfalas entre 100 a 220 dias de lactação						
A	7,24	0,13**	4,30 ^c	0,04*	5,00 ^{ab}	0,02**
B	7,73	0,25**	4,63 ^{ab}	0,10*	4,86 ^{bc}	0,05**
C	7,63	0,21**	4,67 ^a	0,05*	4,84 ^c	0,04**
D	7,21	0,15**	4,48 ^b	0,05*	5,05 ^a	0,03**
Média geral	7,39	0,09**	4,49	0,03*	4,95	0,02**
Efeito (P) tratamento	NS		<0,001		<0,001	
Efeito (P) idade	NS		NS		0,011	
Contraste (A+C) vs (B+D) efeito (P)	NS		NS		NS	
Contraste A vs C efeito (P)	NS		<0,001		0,0005	
Contraste B vs D efeito (P)	NS		NS		0,002	

A = Balanço cátion-aniônico dietético (BCAD) de +121 mEq/kg/MS durante 90 dias; B = 121 mEq/kg/MS durante os primeiros 60 dias e a 164 mEq/kg/MS nos últimos 30 dias; C = BCAD +164 mEq/kg/MS durante 90 dias; D = 164 mEq/kg/MS durante os primeiros 60 dias e a 121 mEq/kg/MS nos últimos 30 dias; EPM = Erro Padrão da Média; NS = Não Significativo ($P>0,05$); * = Assumindo variâncias iguais para os tratamentos; ** = Assumindo variâncias diferentes para os tratamentos.

Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Nos teores de gordura do leite das búfalas <100 dias de lactação foi observado que os tratamentos A, B e C (medias respectivas de 7,59%, 9,21% e 8,41%) foram semelhantes e

superiores a D. Para as búfalas de 100 a 220 dias de lactação não ocorreu efeito de tratamento (média geral foi de 7,39%) (Tabela 4.2). Na avaliação dos teores de proteína no leite das búfalas com menos de 100 dias e de 100 a 200 dias de lactação, os tratamentos B e C foram superiores, com valores médios respectivos de 5,03% e 4,63% para búfalas <100 dias de lactação e 4,63% e 4,67% para as de 100 a 220 dias de lactação.

Analisando o contraste (A+C) vs (B+D) para o teor de gordura, proteína e lactose não houve efeito significativo para as búfalas com menos de 100 e de 100 a 200 dias de lactação (Tabela 4.2). Assim, os parâmetros testados não foram influenciados pela mudança de dieta, realizada nos tratamentos B e D quanto comparados com A e C que receberam a mesma dieta, indicando que a realização de mudança da dieta ou não a cada 30 dias não alteram os teores desses nutrientes.

O contraste A vs C em búfalas com menos de 100 dias de lactação não foi significativo para a proteína e gordura, ou seja, o tratamento A foi igual ao tratamento C (Tabela 4.2) com semelhantes teores de gordura nas búfalas de 100 a 220 dias de lactação (Tabela 4.2). Já para a proteína em búfalas de 100 a 220 dias de lactação, e para a lactose em búfalas <100 e de 100 a 200 dias de lactação, este contraste foi significativo. Para a proteína o melhor tratamento foi C e para a lactose o A. Já o contraste B vs D para a gordura e proteína do leite das búfalas de 100 a 220 dias de lactação não foi observado efeito significativo. Entretanto, os teores de gordura e de proteína no leite das búfalas com menos de 100 dias de lactação foram maiores com o tratamento B que o D. No caso da lactose ocorreu o inverso, o melhor tratamento foi o D em ambos os grupos de animais (Tabela 4.2).

O efeito de idade foi observado na variável CCS das búfalas de 100 a 220 dias de lactação, no qual o tratamento A apresentou melhor média de CCS e o tratamento C a pior com 235 mil células/mL, entretanto, ambos foram iguais a B e D. Resultado diferente ocorreu com as búfalas <100 dias de lactação com melhor resultado obtido com o tratamento D (média de 114 mil células/mL) e pior com o tratamento C (259 mil células/mL), os quais produziram resultados semelhantes aos tratamentos A e B (Tabela 4.3).

Para o ST no leite das búfalas <100 dias de lactação os tratamentos A, B e C obtiveram as maiores médias (respectivamente de 17,93%, 19,83% e 18,58%), porém o primeiro foi semelhante ao tratamento D, que promoveu menor valor médio de sólidos totais. Não houve diferenças entre os tratamentos no teor de ESD. O contrário ocorreu com as búfalas de 100 a 220 dias de lactação em que não houve efeito de tratamento para o ST, mas os tratamentos B, C e D tiveram média superiores para o ESD e o tratamento A promoveu o menor valor médio (Tabela 4.3).

Tabela 4.3 – Teores de sólidos totais (ST), extrato seco desengordurado (ESD) e contagem de células somáticas (CCS) no leite de búfalas com menos de 100 dias e de 100 a 220 dias de lactação conforme os diferentes tratamentos

Búfalas com menos de 100 dias de lactação						
Tratamentos	Qualidade do leite de bufala					
	ST (%)		ESD (%)		CCS (mil cel./mL)	
	Média	EPM*	Média	EPM**	Média	EPM**
A	17,93 ^{ab}	0,44	10,36	0,07	176 ^{ab}	55,38
B	19,83 ^a	0,69	10,62	0,24	133 ^{ab}	29,84
C	18,58 ^a	0,33	10,30	0,11	259 ^a	41,15
D	16,47 ^b	0,34	10,27	0,08	114 ^b	14,21
Média geral	17,84	0,20	10,33	0,05	181	19,77
Efeito (<i>P</i>) tratamento	<0,001		NS		0,01	
Efeito (<i>P</i>) idade	NS		NS		NS	
Contraste (A+C) vs (B+D) efeito (<i>P</i>)	NS		NS		0,02	
Contraste A vs C efeito (<i>P</i>)	NS		NS		NS	
Contraste B vs D efeito (<i>P</i>)	<0,001		NS		NS	
Búfalas entre 100 a 220 dias de lactação						
A	17,51	0,15**	10,28 ^b	0,04**	92 ^b	11,24**
B	18,18	0,30**	10,44 ^{ab}	0,07**	121 ^{ab}	15,12**
C	18,18	0,24**	10,46 ^a	0,06**	235 ^a	51,07**
D	17,73	0,17**	10,52 ^a	0,06**	127 ^{ab}	13,49**
Média geral	17,83	0,10**	10,41	0,03**	149	17,35**
Efeito (<i>P</i>) tratamento	NS		0,004		0,016	
Efeito (<i>P</i>) idade	NS		NS		0,006	
Contraste (A+C) vs (B+D) efeito (<i>P</i>)	NS		NS		NS	
Contraste A vs C efeito (<i>P</i>)	0,02		0,008		0,007	
Contraste B vs D efeito (<i>P</i>)	NS		NS		NS	

A = Balanço cátion-aniônico dietético (BCAD) de +121 mEq/kg/MS durante 90 dias; B = 121 mEq/kg/MS durante os primeiros 60 dias e a 164 mEq/kg/MS nos últimos 30 dias; C = BCAD +164 mEq/kg/MS durante 90 dias; D = 164 mEq/kg/MS durante os primeiros 60 dias e a 121 mEq/kg/MS nos últimos 30 dias; EPM = Erro Padrão da Média; NS = Não Significativo ($p>0,05$); ST = Sólidos Totais; ESD = Extrato Seco Desengordurado; CCS = Contagem de células somáticas; * = Assumindo variâncias iguais para os tratamentos; ** = Assumindo variâncias diferentes para os tratamentos. Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Nos contrastes (A+C) vs (B+D), A vs C e B vs D não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para ST, ESD e CCS para as búfalas <100 e de 100 a 200 dias de lactação, com exceção do contraste (A+C) vs (B+D) na CCS das búfalas <100 dias de lactação em que (B+D) tiveram melhor resultado.

Para o pH, acidez titulável e condutividade elétrica das búfalas com 100 a 220 dias de lactação não foi observado efeito da idade e tratamento ($p>0,05$) (assumindo variâncias iguais para os tratamentos). Esses dados não concordam com os descritos por Correa et al. (2006) que avaliaram em vacas lactantes, dietas com BCAD de +150, +250, +400 e +500 mEq/kg de MS, sendo o bicarbonato de sódio utilizado para correção do BCAD e verificaram que o pH do leite aumentou linearmente e a acidez apresentou resposta cúbica com o aumento do BCAD. Além disso, concluiu que o teor de gordura do leite não foi

alterado pelo aumento BCAD positivo, semelhante ao resultado encontrado para búfalas de 100 a 200 dias de lactação e diferente para as menos de 100 dias de lactação.

A média dos tratamentos para o pH foi de 6,83 (EPM=0,03), acidez titulável de 17,98 °D (EPM=0,36 °D) e condutividade elétrica de 3,89 (EPM=0,14). Analisando os contrastes (A+C) vs (B+D), A vs C e B vs D não foi verificado efeito dos tratamentos, exceto para a variável pH no contraste A vs C, em que o tratamento C teve maior média, indicando que (A+C) é igual a (B+D) para o pH, acidez titulável e condutividade elétrica, e que os tratamentos A e C foram iguais para acidez titulável e condutividade elétrica.

A covariável idade influenciou nos parâmetros de lactose e de CCS no leite das búfalas de 100 a 200 dias de lactação. O BCAD não interferiu no teor de gordura no leite de ambos os grupos de búfalas em lactação, e também na proteína, ST, ESD e CCS das búfalas com menos de 100 dias de lactação. Esses achados foram semelhantes aos de West et al. (1992), Chan et al. (2005), Roche, Petch e Kay (2005) e Ganjkhanlou, Nikkhah e Zali (2010) para gordura e proteína no leite de vacas e Shahzad, Sarwar e Nisa (2008) no leite de búfalas. Entretanto, dietas com aumento de BCAD têm sido observadas aumentar os teores de gordura e proteína (KRZYZWIECKI et al., 2005; WATERMAN et al., 1991; HU et al., 2007), concordando com os dados obtidos com o grupo de búfalas entre 100 a 200 dias de lactação em que o aumento do BCAD promoveu aumento dos teores no leite de proteína, ST, ESD, CCS, mas o aumento do BCAD não alterou os teores de lactose em ambos os grupos de búfalas da mesma forma que observados por Shahzad, Sarwar e Nisa (2008) e Ganjkhanlou, Nikkhah e Zali (2010).

4.4 Conclusão

Dieta com BCAD de +121 mEq/kg/MS promove aumento na produção de leite, sem a influência da idade da búfala na produção e qualidade do leite em relação da dieta +164 mEq/kg/MS.

O teor de lactose do leite é reduzido com maior BCAD em búfalas no início da lactação, enquanto que os teores de proteína, ST, ESD e CCS são elevados com maior BCAD em búfalas entre 100 a 200 dias de lactação.

Nas búfalas no início da lactação pode ser indicado a alteração da dieta de acordo com a produção de leite do mês anterior, aumentando a produção e reduzindo gastos com alimentação.

Referências

- APPER-BOSSARD, E.; PEYRAUD, J.L. Dietary cation-anion difference could enhance acid-base status of lactating dairy cows submit to a subacidosis. **J. Anim. Feed Sci.**, v.13, p.27-30, 2004.
- APPER-BOSSARD, E.; PEYRAUD, J. L.; FAVERDIN, P.; MESCHY, F. Changing Dietary Cation-Anion Difference for Dairy Cows Fed with Two Contrasting Levels of Concentrate in Diets. **J. Dairy Sci.** v. 89, p.749-760, 2006.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis**. 18th.ed. Gaithersburg, 2005 revision, 2007. Chap. 4, p.8.
- BLOCK, E. Manipulation of dietary cation-anion difference on nutritionally related production diseases, productivity, and metabolic responses of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.7, n.5, p.1437-1450, 1994.
- BORUCKI CASTRO, S.I.; PHILLIP, L.E.; GIRARD, V.; TREMBLAY, A. Altering dietary cation-anion difference in lactating dairy cows to reduce phosphorus excretion to the environment. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.87, p.1751-1757, 2004.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Dispõe sobre os métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. **Diário Oficial da União**, Brasília, 14 dez. 2006, Seção 1, p. 8.
- CAMPANILE, G.; BERNARDES, O.; BASTIANETTO, E.; BARUSELLI, P.S.; ZICARELLI, L.; VECCHIO, D. Manejo de Búfalas Leiteiras. **Buffalo Tec. Associação Brasileira de Criadores de Búfalos**. 74p, 2007.
- CHAN, P.S.; WEST, J.W.; BERNARD, J.K.; FERNANDEZ, M. Effects of dietary cation-anion difference on intake, milk yield, and blood components of the early lactation cow. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.88, p.4384-4392, 2005.
- CIIAGRO. **Portal Agrometeorológico e Hidrológico do Estado de São Paulo**. Disponível em: <http://www.ciiagro.org.br/diario/cperiodo>. Acesso em: 16 mar. 2015.
- COMPÊNDIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL. **In: Métodos Analíticos**. ANFAR, SINDIRAÇÕES, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, Colégio Brasileiro de Nutrição Animal. São Paulo, p.11, 1998.
- CORREA, L. B.; ZANETTI, M. A.; DEL CLARO, G. R.; PAIVA, F. A. D.; ELMOR, L. D. Balanço cátion-aniônico da dieta na composição do leite. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.5, p.1589-1593, 2006.
- CORREA, L.B.; ZANETTI, M.A.; SARAN NETTO, A.; DEL CLARO, G.R.; PAIVA, F.A.; MARTINS, P.G.M.A. Effects of supplemental dietary sodium bicarbonate on performance of lactating Holstein cows during the summer season in Brazil. **Livestock Science**, v.169, p.78-82, 2014.

GANJKHANLOU, M.; NIKKHAH, A.; ZALI, A. Effect of dietary cation-anion balance on milk production and blood mineral of Holstein cows during the last two months of pregnancy. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v.9, n.36, p.5983-5988, 2010.

HU, W.; MURPHY, M.R. Dietary cation-anion difference effects on performance and acid-base status of lactating dairy cows: a meta-analysis **J. Dairy Sci.** v.87, p.2222-2229, 2004.

HU, W.; MURPHY, M.R.; CONSTABLE, P.D.; BLOCK, E. Dietary cation-anion difference effects on performance and acid-base status of dairy cows postpartum. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.90, n.7, p.3367-75, 2007.

KEARL, L.C. **Nutrient requirements of ruminant in development countries**. Logan: Utah State University, 1982.

KRUG, F.J. **Métodos de preparo de amostras; fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar**. Editado por Francisco José Krug, 1 ed. Piracicaba, 2010, 340 f.

KRZYWIECKI, S.; BODARSKI, R.; PRES, J.; LUCZAK, W. The relationship between cation-anion differences in dairy cow diets and some blood indices levels and milk composition. **J. Anim. Feed Sci.**, Poland, v.14, p.271-274, 2005.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrients requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washington, D.C. National Academy of Sciences, 2001.

ROCHE, J. R.; PETCH, S.; KAY, J.K. Manipulating the dietary cation-anion difference via drenching to early lactation dairy cows grazing pasture. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.88, p.264-276, 2005.

ROSS, J.G.; SPEARS, J.W.; GARLICH, J.D. Dietary electrolyte balance effects on performance and metabolic characteristics in finishing steers. **J. Anim. Sci**, Champaign, v.72, p.1600-1607, 1994.

SHAHZAD, M.A.; SARWAR, M.; NISA, M. Influence of altering dietary cation anion difference on milk yield and its composition by early lactating *Nili-Ravi* buffaloes in summer. **Livestock Science**, v.113, p.133-143, mar., 2008.

SILVA, D.J. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. Viçosa: UFV, 1990.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análises de alimentos: Métodos químicos e biológicos**, ed. 3, UFV, Viçosa, 2002.

TUCKER, W.B.; HARRISON, G.A.; HEMKEN, R.W. Influence of dietary cation-anion balance on milk, blood, urine and rumen fluid in lactating dairy cattle. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.71, p.346-354, 1988.

WATERMAN, D.F.; SWENSON, T.S.; TUCKER, W.B.; HEMKEN, R.W. Role of magnesium in the dietary cation-anion balance equation for ruminants. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.74, n.6, p.1866-1873, 1991.

WEST, J.W.; HAYDON, K.D.; MULLINIX, B.G.; SANDIFER, T.G. Dietary cation-anion balance cation source effects on production and acid-base status of heat-stressed cows. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.75, p.2276-2786, 1992.

**CAPÍTULO 5 : Avaliação de dietas aniônicas na produção e qualidade do leite de
búfalas no meio e final da lactação**

CAPÍTULO 5 AVALIAÇÃO DE DIETAS ANIÔNICAS NA PRODUÇÃO E QUALIDADE DO LEITE DE BÚFALAS NO MEIO E FINAL DA LACTAÇÃO

5.1 Introdução

Pesquisas vêm sendo realizadas sobre o uso do balanço cátion-aniônico dietético (BCAD) em bovinos leiteiros, uma vez que o BCAD pode ter importante efeito no metabolismo e, conseqüentemente no desempenho produtivo dos animais (MILES; BUTCHER, 1993), principalmente pela sua ação no equilíbrio ácido-base (Ross, Spears e Garlich, 1994) ou por meio da bomba de Na^+ e K^+ (Block, 1994). Esses estudos tem sido relacionados com doenças metabólicas como a febre do leite no pós-parto em vacas em que ocorre uma inabilidade dos animais em suprir o rápido aumento da demanda do Ca, ocasionando queda brusca no nível sérico deste mineral e alguns poucos trabalhos específicos sobre a produção e qualidade do leite.

Pesquisadores observaram que a incidência da febre do leite em vacas no pós-parto foi reduzida com dietas aniônicas, sendo recomendadas para vacas no pré-parto (HARRIS, 1993; BLOCK, 1994; WU et al, 2008; SHAHZAD et al., 2011). Segundo Dishington (1975) isso ocorre, pois dietas aniônicas (Cl e S estão em excesso em relação aos íons Na e K) mantêm níveis adequados de Ca e P séricos durante o período de stress de Ca.

As dietas com maior proporção de ânions podem causar acidose metabólica (STEWART, 1978 apud BLOCK, 1994) e com o progresso da lactação, o pH e a concentração de bicarbonato do sangue aumentam, sugerindo que vacas no final da lactação são mais susceptíveis à alcalose (ERDMAN; HEMKEN; BULL, 1982).

Já dietas com BCAD positivo favorecem vacas em lactação, proporcionando níveis maiores de produção de leite em vacas (TUCKER; HARRISON; HEMKEN, 1988; BLOCK, 1994; HU; MURPHY, 2004; APPER-BOSSARD; PEYRAUD, 2004; APPER-BOSSARD et al., 2006; GANJKHANLOU; NIKKHAH; ZALI, 2010; CORREA et al., 2014) e búfalas (SHAHZAD; SARWAR; NISA, 2008). A justificativa para isso de acordo com Block (1994) é que durante a lactação, as vacas apresentam altas taxas metabólicas (ambiente celular tende a tornar-se ácido) e as dietas catiônicas (maiores níveis de Na e K), promovem efeitos alcalinogênicos, principalmente quando as dietas são altamente positivas. Tucker, Harrison e Hemken (1988) citam valores de BCAD entre +200 e +375mEq/kg de MS, enquanto que para Sanchez e Beede (1996) este valor se encontra entre +250 e +500mEq/kg de MS.

Pode ocorrer também com aumento do BCAD positivo aumento no teor de gordura (ROCHE; PETCH; KAY, 2005; KRZYWIECKI et al., 2005; HU et al., 2007; SHAHZAD; SARWAR; NISA, 2008; GANJKHANLOU; NIKKHAH; ZALI, 2010) e proteína do leite (WATERMAN et al., 1991; HU et al., 2007). Entretanto, esse efeito não tem sido confirmado em diferentes sistemas de alimentação de vacas leiteiras (BORUCKI CASTRO et al., 2004; CHAN et al., 2005; ROCHE; PETCH; KAY, 2005; HU et al., 2007).

A composição do leite de vacas alimentadas com diferentes BCAD não tem sido alterada, principalmente os teores de gordura e proteína (CHAN et al., 2005; ROCHE; PETCH; KAY, 2005; SHAHZAD; SARWAR; NISA, 2008; GANJKHANLOU; NIKKHAH; ZALI, 2010).

Assim, Byers (1994) concluiu que o BCAD para vacas deverá ser alto no início da lactação e diminuir ao longo dela, de tal forma a ser negativo de 3 a 4 semanas antes do parto, para evitar a febre do leite. Diante de resultados divergentes fica evidente a necessidade de informações científicas a respeito do BCAD negativo e seu envolvimento com a produção e qualidade do leite, especialmente com a espécie bubalina em lactação. Desta forma, o presente experimento teve por objetivo avaliar quatro dietas aniônicas, com BCAD de 61, -67, -73, e -100 mEq/kg/MS na produção e qualidade (gordura, lactose, proteína, sólidos totais, extrato seco desengordura, acidez, pH, condutividade elétrica e contagem de células somática) do leite de búfala.

5.2 Material e Métodos

O experimento foi realizado de agosto a setembro de 2013, com período experimental de 60 dias em propriedade rural de bubalinocultura leiteira da região central do Estado de São Paulo, Brasil, com temperatura média de 21,64°C (máxima de 29,23°C e mínima de 14,05°C) e precipitação acumulada de 1.493,79mm (CIIAGRO, 2015) com 259 búfalas mestiças das raças Murrah, Jafarabadi e Mediterrâneo, com médias de: peso 670 kg; idade média de 6,8 anos com três partos. Os animais foram distribuídos em dois grupos de acordo com o estágio da lactação em Grupo 1 com 97 búfalas com 100 a 200 dias de lactação (meio da lactação) e Grupo 2 com 162 búfalas com búfalas acima de 200 dias de lactação (final da lactação).

Quatro tratamentos designados de A, B, C e D consistiram de quatro dietas contendo quatro níveis de BCAD negativo -61, -67, -73, e -100 mEq/kg/MS, respectivamente formulados com silagem de cana de açúcar (*Saccharum officinarum*), resíduo de cervejaria e

concentrado comercial (soja farelo, milho grão e núcleo de minerais e vitaminas) (Tabela 5.1). As dietas foram isoenergéticas e supriam as estimativas das necessidades nutricionais das búfalas em lactação (KEARL, 1982; NRC, 2001; CAMPANILE et al., 2007).

Tabela 5.1 – Composição das dietas de cada tratamento e número de animais por tratamento com 100 a 200 dias e acima de 200 dias de lactação

Ingredientes da dieta	Tratamentos			
	A	B	C	D
Concentrado (produto comercial) (%)	28,43	26,87	25,14	17,76
Bagaço de Cevada (%)	14,83	15,88	15,51	15,84
Silagem de cana-de-açúcar (%)	56,74	57,25	59,35	66,40
Proteína Bruta (%)	12,07	11,91	11,45	9,80
Energia metabolizável (Mcal/kg/MS)	2,47	2,46	2,45	2,39
BCAD médio da dieta (mEq/kg/MS)	-61	-67	-73	-100
Número de animais de 100 a 200 dias de lactação	15	52	15	15
Número de animais <200 dias de lactação	50	45	33	34

BCAD = Balanço cátion-aniônico dietético.

As búfalas foram mantidas em regime de confinamento em instalações especializadas cobertas, com cocho e bebedouros com água disponível à vontade e ventiladores climatizadores.

Para estimativa dos cálculos de BCAD foi utilizada a equação $(Na+K)-(Cl+S)$ em mEq/kg/MS (Block, 1994). Para tanto, foram analisados nas amostras dos ingredientes das dietas, os níveis de sódio (Na), potássio (K), cálcio (Ca), enxofre (S) e magnésio (Mg) pelo método de preparação de amostra por digestão nítrico/peróxido (KRUG, 2010) e leitura por espectrômetro de emissão (ICP OES-da Baird, modelo ICP 2000, USA e visão radial, com fonte de radio frequência de 40 MHz) e o cloro (Cl) por titulação (AOAC, 2007), no Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL).

Análises química-bromatológicas dos ingredientes foram realizadas da matéria seca (MS), da matéria mineral (MM) pela incineração simples, o extrato etéreo (EE) por Soxhlet (SILVA; QUEIROZ, 2002), proteína bruta (PB) pelo micro-Kjeldahl (COMPÊNDIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 1998), fibra em detergente neutro e ácido (FDN e FDA) pelo método ANKOM (SILVA, 1990), no Laboratório de Metabolismo Ruminal e Bromatologia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA/USP).

Os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram calculados pela fórmula: %proteína bruta digestível (PBD) + % fibra em detergente neutro verdadeiramente digestível (FDNvD) +

% carboidrato não fibroso digestível (CNFD) + 2,25 * % extrato etéreo digestível (EED) (NRC, 2001).

A ordenha mecanizada em sala de ordenha tipo fosso foi realizada duas vezes ao dia (às 5 e 14 horas), com pré e pós dipping com coleta individual de amostras de leite da ordenha da manhã (CASSOL; MACHADO, 2006). A cada 30 dias foram avaliados os parâmetros produção diária do leite. As análises dos teores no leite de gordura, lactose, proteína, sólidos totais (ST), extrato seco desengordurado (ESD) (pelo equipamento Bentley 2000), contagem de células somáticas (CCS) (pelo equipamento Somacount 300®) foram realizadas no Laboratório Clínica do Leite da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ-USP). Já a acidez titulável (BRASIL, 2006), pH (utilizando pHmêtro portátil Misura line - Hanna Instruments Brasil) e condutividade elétrica (por condutivímetro portátil digital com computador automático de temperatura gama de 0,0 a 199,9 MS/CM - Multi-range EC Meters) do leite foram determinados no local da ordenha a cada 30 dias em 20 animais por tratamento.

As análises estatísticas foram realizadas no Grupo de Melhoramento Animal do Departamento de Ciências Básicas da FZEA/USP utilizando o PROC GLM e GLIMMIX do pacote estatístico SAS 9.3. O modelo seguiu-se em delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e diferentes números de repetições, incluindo o efeito fixo de tratamentos, com verificação das pressuposições do modelo, sendo que valores atípicos foram retirados da análise. Quando a homogeneidade das variâncias não foi constatada, utilizou-se o método dos mínimos dos quadrados ponderados pelo inverso das variâncias dos tratamentos. Após a análise de variância as variáveis foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5.3 Resultados e Discussão

Os resultados da produção de leite diária nos dois grupos de búfalas de acordo com o estágio da lactação no início do experimento podem ser observados Tabela 5.2. Não houve diferença significativa entre os tratamentos para ambos os grupos de búfalas.

A média geral dos tratamentos para as búfalas de 100 a 200 dias de lactação foi de 17,93 kg/animal/dia e para as búfalas >200 dias de lactação foi de 14,38 kg/animal/dia, demonstrando alto potencial genético dos animais experimentais considerando a produção de leite de espécie bubalina no Brasil (Tabela 5.2). O BCAD negativo, variando de -61 a -100

mEq/kg/MS não promoveu efeito na produção de leite diária em ambos os grupos de animais.

Tabela 5.2 – Produção média diária do leite das búfalas com 100 a 200 e >200 dias de lactação conforme os diferentes tratamentos

Tratamentos	Produção diária de leite de búfala			
	100 a 200 dias de lactação		>200 dias de lactação	
	Média	EPM [*]	Média	EPM ^{**}
	kg/animal/dia			
A	17,24	0,29	13,08	2,55
B	18,31	0,99	17,66	0,87
C	18,80	2,65	12,76	2,70
D	15,38	1,46	15,29	0,99
Média Geral	17,93	0,80	14,38	0,54
Efeito (P)	NS		NS	

A = Dieta com BCAD -61 mEq/kg/MS; B = Dieta com BCAD -67 mEq/kg/MS; C = Dieta com BCAD -73 mEq/kg/MS; D = Dieta com BCAD -100 mEq/kg/MS; EPM = Erro padrão da média; NS = Não significativo ($p>0,05$); * =Assumindo variâncias iguais para os tratamentos; ** =Assumindo variâncias diferentes para os tratamentos.

Pesquisadores utilizando diferentes BCAD também não observaram efeitos sobre a produção de leite com dietas contendo BCAD positivo, entre eles: Hu et al. (2007) usando BCAD de +220 e +470 mEq/kg de MS; Chan et al. (2005) com BCAD de +20 a +50 mEq/kg/MS) e Roche, Petch e Kay (2005) com BCAD de +23 a +88 mEq/100g/ MS. Resultados positivos na produção de leite foram porém observados com uso de baixos níveis de BCAD, tais como Tucker, Harrison e Hemken (1988) que forneceram a vacas dietas com BCAD -10, 0, +10 e +20 mEq/kg/MS; Shahzad, Sarwar e Nisa (2008) verificaram em búfalas da raça Nili-Ravi com BCAD de -11, +11, +22 e 33 mEq/100 g de MS aumentos lineares nas produções de leite e gordura, enquanto que as proteínas do leite e a lactose não foram afetadas, mas os animais encontravam-se no início da lactação; Ganjkhanelou, Nikkhah e Zali (2010) trabalhando em vacas e com BCAD de -130, 0 e +130 mEq/kg/MS também observaram efeito semelhante.

Valores que determinam a qualidade do leite produzido podem ser observados na Tabela 5.3 e 5.4 para o grupo de búfalas de 100 a 200 e >200 dias de lactação, respectivamente. Para o grupo de búfalas com lactação entre 100 e 200 dias, o tratamento D apresentou maior teor de gordura (média 8,10%), seguido do tratamento A (média 6,92%), enquanto que o tratamento D produziu menor teor de lactose (média 4,7%) que o tratamento B (média 5,00%), não havendo diferenças significativas nos demais parâmetros avaliados (Tabela 5.3). Entretanto, a qualidade do leite foi mais afetada pelos tratamentos nas búfalas em final de lactação. Nesse caso, o tratamento B promoveu menores teores de gordura,

proteína, sólidos totais e CCS, mas aumentou o teor de lactose no leite (média 5,07%) (Tabela 5.4). Hu et al. (2007) obtiveram resultados semelhantes para proteína e ST e diferente com o ESD com vacas recebendo diferentes BCAD.

Tabela 5.3 – Teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais, extrato seco desengordurado e contagem de células somáticas no leite das búfalas de 100 a 200 dias de lactação conforme os diferentes tratamentos

Trat.	Qualidade do leite de búfala											
	Gordura (%)		Proteína (%)		Lactose (%)		ST (%)		ESD (%)		CCS (mil cel./mL)	
	M	EPM**	M	EPM**	M	EPM**	M	EPM**	M	EPM**	M	EPM**
A	6,92 ^{ab}	0,48	4,58	0,20	4,84 ^{ab}	0,0005	18,85	0,39	10,19	0,73	94	36,22
B	5,98 ^b	0,13	4,44	0,04	5,00 ^a	0,03	16,10	1,37	10,26	0,04	114	41,95
C	6,43 ^b	0,45	4,44	0,22	4,79 ^{ab}	0,40	16,72	0,17	10,16	0,47	101	34,59
D	8,10 ^a	0,20	4,87	0,11	4,70 ^b	0,06	17,29	0,009	10,38	0,09	75	23,82
Média	6,36	0,11	4,51	0,04	4,94	0,03	17,00	0,16	10,26	0,06	106	30,44
Efeito (P)	<0,001		NS		0,008		NS		NS		NS	

A = Dieta com BCAD -61 mEq/kg/MS; B = Dieta com BCAD -67 mEq/kg/MS; C = Dieta com BCAD -73 mEq/kg/MS; D = Dieta com BCAD -100 mEq/kg/MS; ST = Sólidos totais; ESD = Extrato seco desengordurado; CCS = Contagem de células somáticas; M = Média geral; EPM = Erro padrão da média; NS = Não significativo (p>0,05); **=Assumindo variâncias diferentes para os tratamentos.

Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey (p<0,05).

Tabela 5.4 – Teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais, extrato seco desengordurado e contagem de células somáticas no leite das búfalas >200 dias de lactação conforme os diferentes tratamentos

Trat.	Qualidade do leite de búfala											
	Gordura (%)		Proteína (%)		Lactose (%)		ST (%)		ESD (%)		CCS (mil cel./mL)	
	M	EPM**	M	EPM*	M	EPM*	M	EPM*	M	EPM*	M	EPM**
A	7,51 ^a	0,23	4,82 ^a	0,05	4,73 ^b	0,09	19,08 ^a	0,49	10,27	0,14	86 ^{ab}	20,44
B	5,93 ^b	0,16	4,42 ^b	0,05	5,07 ^a	0,04	16,68 ^b	0,22	10,26	0,06	44 ^b	7,84
C	7,33 ^a	0,18	4,63 ^{ab}	0,06	4,80 ^b	0,05	17,81 ^a	0,28	10,32	0,08	101 ^a	18,68
D	7,73 ^a	0,22	4,85 ^a	0,02	4,76 ^b	0,05	18,48 ^a	0,27	10,43	0,07	86 ^a	14,08
Média	7,08	0,10	4,68	0,03	4,89	0,47	17,65	0,14	10,33	0,04	77	8,12
Efeito (P)	0,001		0,001		0,001		0,001		NS		0,003	

A = Dieta com BCAD -61 mEq/kg/MS; B = Dieta com BCAD -67 mEq/kg/MS; C = Dieta com BCAD -73 mEq/kg/MS; D = Dieta com BCAD -100 mEq/kg/MS; ST = Sólidos totais; ESD = Extrato seco desengordurado; CCS = Contagem de células somáticas; M = Média geral; EPM = Erro padrão da média; NS = não significativo (p>0,05); * = Assumindo variâncias iguais para os tratamentos; ** = Assumindo variâncias diferentes para os tratamentos.

Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey (p<0,05).

Diferentes níveis de BCAD na dieta afetaram o teor de gordura no leite de búfalas, demonstrando a influencia do BCAD negativo na gordura do leite. Entretanto, dieta com nível maior de BCAD negativo promoveu maior teor de gordura no leite, especialmente em búfalas no meio da lactação. O aumento do teor de gordura com aumento do BCAD na

dieta foi observado por Roche, Petch e Kay (2005), Krzywiecki et al. (2005), Hu et al. (2007) e Shahzad, Sarwar e Nisa (2008), com dietas com BCAD positivo. Assim, nossos dados sugerem que em dietas com balanço negativo, a diminuição do BCAD promoveria aumento no teor de gordura do leite.

O BCAD negativo influenciou também os teores de proteína do leite, porém a medida que o BCAD negativo foi diminuindo não ocorreu diminuição dos teores de proteína, parecido com o que foi relatado por Chan et al. (2005) e Roche, Petch e Kay (2005), os quais observaram que o aumento do BCAD não aumentou a proteína do leite.

Os sólidos totais no leite também apresentaram resultados semelhantes aos observados com a gordura (devido a relação direta entre eles), no qual nas búfalas >200 dias de lactação, os tratamentos A, C e D, tiveram as maiores médias (respectivamente, 19,08%, 17,81% e 18,48%) diferenciando do tratamento B (média de 16,68%) (Tabela 5.4), levando a inferir que o BCAD negativo interferiu no teor de ST, mas o seu abaixamento não resultou em diminuição da porcentagem de ST no leite, diferentemente do que foi descrito por Hu et al. (2007).

A CCS nas búfalas >200 dias de lactação, foi superior e igual nos tratamentos A, C e D (médias de 86, 101 e 86 mil células/mL) e com exceção do tratamento A, os demais foram diferentes de B (média de 44 mil células/mL). Todos os tratamentos apresentaram índices de CCS satisfatórios, não observando a incidência de mastite subclínica nos animais, pois conforme afirmaram Medeiros et al. (2011), búfalas sem mastite podem apresentar CCS com até 280.000 células/mL, já Dhakal (2006) cita até 200.000 células/mL. Acima deste valor é indicativo de infecção subclínica da glândula mamária.

Com relação ao pH, acidez titulável e condutividade elétrica das búfalas de 100 a 200 dias de lactação (assumindo variâncias diferentes para os tratamentos) e >200 dias de lactação (assumindo variâncias iguais para os tratamentos), não foi observada diferença entre os tratamentos ($p>0,05$), assim o BCAD negativo não alterou estes parâmetros, diferente do descrito por Correa et al. (2006). As médias dos tratamentos para as búfalas de 100 a 200 e >200 dias de lactação foram respectivamente: para o pH de 6,75 para ambos os grupos de búfalas; para a acidez titulável de 19,28°D (EPM=0,47°D) e 19,89°D (EPM=0,29°D) e condutividade elétrica de 3,54 (EPM=0,06) e 4,12 (EPM=0,11).

5.4 Conclusão

Balanços cátion-aniônico dietéticos de -61 a -100 mEq/kg/MS promovem produção de leite diária semelhante em búfalas em qualquer dos estágios da lactação de 100 a 200 e acima 200 dias de lactação. Entretanto, afetam o teor de gordura e lactose do leite em búfalas em ambos estágios da lactação e também os teores proteína, ST e CSS em búfalas acima de 200 dias de lactação.

Referências

APPER-BOSSARD, E.; PEYRAUD, J.L. Dietary cation-anion difference could enhance acid-base status of lactating dairy cows submit to a sub acidosis. **J. Anim. Feed Sci.**, v.13, p.27-30, 2004.

APPER-BOSSARD, E.; PEYRAUD, J. L.; FAVERDIN, P.; MESCHY, F. Changing Dietary Cation-Anion Difference for Dairy Cows Fed with Two Contrasting Levels of Concentrate in Diets. **J. Dairy Sci.** v.89, p.749-760, 2006.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis**. 18th.ed. Gaithersburg, 2005 revision, 2007. Chap. 4, p.8.

BLOCK, E. Manipulation of dietary cation-anion difference on nutritionally related production diseases, productivity, and metabolic responses of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.7, n.5, p.1437-1450, 1994.

BORUCKI CASTRO, S.I.; PHILLIP, L.E.; GIRARD, V.; TREMBLAY, A. Altering dietary cation-anion difference in lactating dairy cows to reduce phosphorus excretion to the environment. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.87, p.1751-1757, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa n° 68, de 12 de dezembro de 2006. Dispõe sobre os métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. **Diário Oficial da União**, Brasília, 14 dez. 2006, Seção 1, p. 8.

BYERS, D.I. Management considerations for successful use of anionic salts in dry-cow diets. **Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.**, v.16, n.1-3, p.237-242, 1994.

CAMPANILE, G.; BERNARDES, O.; BASTIANETTO, E.; BARUSELLI, P.S.; ZICARELLI, L.; VECCHIO, D. Manejo de Búfalas Leiteiras. **Buffalo Tec. Associação Brasileira de Criadores de Búfalos**. 74p, 2007.

CASSOL, L.D.; MACHADO, P.F. **Manual de Instruções para Coleta e envio de Amostras de Leite para Análise**. Laboratório Clínica do Leite da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ-USP), Piracicaba, 2006.

CHAN, P.S.; WEST, J.W.; BERNARD, J.K.; FERNANDEZ, M. Effects of dietary cation-anion difference on intake, milk yield, and blood components of the early lactation cow. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.88, p.4384-4392, 2005.

CIIAGRO. **Portal Agrometeorológico e Hidrológico do Estado de São Paulo**. Disponível em: <http://www.ciiagro.org.br/diario/cperiodo>. Acesso em: 16 mar. 2015.

COMPÊNDIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL. **In: Métodos Analíticos**. ANFAR, SINDIRAÇÕES, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, Colégio Brasileiro de Nutrição Animal. São Paulo, p.11, 1998.

CORREA, L. B.; ZANETTI, M. A.; DEL CLARO, G. R.; PAIVA, F. A. D.; ELMOR, L. D. Balanço cátion-aniônico da dieta na composição do leite. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.5, p.1589-1593, 2006.

CORREA, L.B.; ZANETTI, M.A.; SARAN NETTO, A.; DEL CLARO, G.R.; PAIVA, F.A.; MARTINS, P.G.M.A. Effects of supplemental dietary sodium bicarbonate on performance of lactating Holstein cows during the summer season in Brazil. **Livestock Science**, v.169, p.78-82, 2014.

DHAKAL, I.P. Normal somatic cell count and subclinical mastitis in Murrah buffaloes. **J. Vet. Med.**, Berlin, v.53, p.81-86, 2006.

DISHINGTON, I. W. Prevention of milk fever (hypocalcemic paresis puerperalis) by dietary salt supplements. **Acta Vet. Scand.**, Copenhagen, v.16, p.503-512, 1975.

ERDMAN, R A.; HEMKEN, R.W.; BULL, L.S. Dietary sodium bicarbonate and magnesium oxide for early lactation dairy cows: effects on production, acid-base metabolism and digestion. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.65, p.712-731, 1982.

GANJKHANLOU, M.; NIKKHAH, A.; ZALI, A. Effect of dietary cation-anion balance on milk production and blood mineral of Holstein cows during the last two months of pregnancy. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v.9, n.36, p.5983-5988, 2010.

HARRIS Jr.; B. Dietary electrolyte balancing rations in the prepartum or late dry period. **Agri-Practice**, v.14, p.21-24, 1993.

HU, W.; MURPHY, M.R. Dietary cation-anion difference effects on performance and acid-base status of lactating dairy cows: a meta-analysis **J. Dairy Sci.** v.87, p.2222-2229, 2004.

HU, W.; MURPHY, M.R.; CONSTABLE, P.D.; BLOCK, E. Dietary cation-anion difference effects on performance and acid-base status of dairy cows postpartum. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n.7, p.3367-75, 2007.

KEARL, L.C. **Nutrient requirements of ruminant in development countries**. Logan: Utah State University, 1982.

KRUG, F.J. **Métodos de preparo de amostras; fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar**. Editado por Francisco José Krug, 1 ed. Piracicaba, 2010, 340 f.

KRZYWIECKI, S.; BODARSKI, R.; PRES, J.; LUCZAK, W. The relationship between cation-anion differences in dairy cow diets and some blood indices levels and milk composition. **J. Anim. Feed Sci.**, Poland, v.14, p.271-274, 2005.

MEDEIROS, E.S.; BARBOSA, S.B.P.; JATOBA, R.B.; AZEVEDO, S.S.; JUNIOR, J.W.P.; SAUKAS, T.N.; ALBUQUERQUE, P.P.; MOTA, R.A. Perfil da contagem de células somáticas na infecção intramamária em búfalas na Região Nordeste do Brasil. **Pesquisa Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v.31, n.3, p. 219-223, mar., 2011.

MILES, R.; BUTCHER, G. Equilíbrio ácido-base I: princípios básicos. **Indústria avícola**, p.21-24, 1993.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrients requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washington, D.C. National Academy of Sciences, 2001.

ROCHE, J. R.; PETCH, S.; KAY, J.K. Manipulating the dietary cation-anion difference via drenching to early lactation dairy cows grazing pasture. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.88, p.264-276, 2005.

ROSS, J.G.; SPEARS, J.W.; GARLICH, J.D. Dietary electrolyte balance effects on performance and metabolic characteristics in finishing steers. **J. Anim. Sci**, Champaign, v.72, p.1600-1607, 1994.

SANCHEZ, W.K.; BEEDE, D.K. Is there an optimal cation-anion difference for lactation diets?. **Animal Feed Science and Technology**, v.59, p.3-12, 1996.

SHAHZAD, M.A.; SARWAR, M.; NISA, M. Influence of altering dietary cation anion difference on milk yield and its composition by early lactating *Nili-Ravi* buffaloes in summer. **Livestock Science**, v.113, p.133-143, mar., 2008.

SHAHZAD, M.A.; SHARIF, M.; NISA, M.; SARWAR, M.; FAROOQ, M.; SADDIQI, H.A. Changing certain dietary cation anion minerals: Impact on blood chemistry, milk fever and udder edema in buffaloes during winter. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 10, n. 62, p. 13651-13663, 2011.

SILVA, D.J. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. Viçosa: UFV, 1990.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análises de alimentos: Métodos químicos e biológicos**, ed. 3, UFV, Viçosa, 2002.

TUCKER, W.B.; HARRISON, G.A.; HEMKEN, R.W. Influence of dietary cation-anion balance on milk, blood, urine and rumen fluid in lactating dairy cattle. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.71, p.346-354, 1988.

WATERMAN, D.F.; SWENSON, T.S.; TUCKER, W.B.; HEMKEN, R.W. Role of magnesium in the dietary cation-anion balance equation for ruminants. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.74, n.6, p.1866-1873, 1991.

WU, W.X.; LIU, J.X.; XU, G.Z.; YE, J.A. Calcium homeostasis, acid–base balance, and health status in periparturient Holstein cows fed diets with low cation-anion difference. **Livestock Science**, v.117, p.7-14, 2008.

CAPÍTULO 6 EFEITOS DE NÍVEIS CRESCENTES DE DIETAS CATIÔNICAS NA PRODUÇÃO, QUALIDADE E MINERAIS NO LEITE DE BÚFALA

6.1 Introdução

O balanço cátion-aniônico dietético (BCAD) caracteriza-se como a diferença existente entre os cátions (sódio e potássio) e os ânions (cloro e enxofre) na dieta total (BLOCK, 1994). O BCAD exerce vários efeitos sobre o metabolismo animal. Sua ação mais importante é na regulação do equilíbrio ácido-base (principalmente na bomba de Na^+ e K^+) (STEWART, 1978 apud BLOCK, 1994), e em vacas leiteiras, também pode influenciar o desempenho lactacional (BLOCK, 1994; SANCHES; BEEDE, 1996).

Nos últimos anos pesquisas têm sido realizadas visando conhecer os efeitos do BCAD em bovinos leiteiros. Alguns autores concluíram que dietas catiônicas (BCAD positivo) podem aumentar a ingestão de matéria seca (IMS) e a produção de leite em vacas (WEST et al., 1992; BLOCK, 1994; ZIA et al., 2001) e em búfalas (SHAHZAD; SARWAR; NISA, 2008). Entretanto, há trabalhos que não mostraram esse efeito (BORUCKI CASTRO et al., 2004; CHAN et al., 2005; ROCHE; PETCH; KAY, 2005; CORREA et al., 2006; HU et al., 2007). O BCAD positivo pode também afetar a composição do leite, principalmente promovendo aumento da gordura (WANTERMAN et al., 1991; KRZYWIECKI et al., 2005; ROCHE; PETCH; KAY, 2005; SHAHZAD; SARWAR; NISA, 2008) e proteína (WANTERMAN et al., 1991). Porém, West et al. (1992), Correa et al. (2006) e Hu et al. (2007) não observaram alteração na composição do leite com diferentes BCAB.

Assim, o presente experimento teve por objetivo avaliar o uso de dietas com níveis crescentes de BCAD positivos na produção, qualidade e minerais no leite de búfalas.

6.2 Material e Métodos

O experimento teve duração de 12 semanas (novembro e dezembro de 2013; janeiro e fevereiro de 2014), sendo realizado em propriedade rural produtora de leite de búfala, localizada na região central do Estado de São Paulo, Brasil, temperatura média de 24,07°C (máxima de 31,47°C e mínima de 17,44°C) e precipitação acumulada de 1.150,84mm (CIIAGRO, 2015). Utilizou-se 21 búfalas mestiças com maior grau de sangue da raça Murrah, mantidas em regime semi-estabuladas, em início e meio de lactação, com

ordenha mecânica em fosso, uma vez ao dia (manhã) e pré-dipping. Com produção média de 5,3 kg de leite/animal/dia, peso médio de 600 kg, e consumo de MS de 2,4% do peso vivo.

As búfalas foram distribuídas em blocos inteiramente casualizados, conforme produção de leite, em baixa (<4,38 kg/animal/dia), média (4,39 a 5,7 kg/animal/dia) e alta (>5,8 kg/animal/dia), identificadas e submetidas a um fator de tratamento, sendo de três dietas constituídas com níveis crescentes de BCAD positivo, designadas como Tratamentos T40, T120 e T190 contendo +40, +120 e +190 mEq/MS, respectivamente e um fator longitudinal (tempo em semana).

O BCAD foi estimado através de cálculos usando a equação: $(Na+K)-(Cl+S)/mEq/kg$ de MS com os teores dos minerais dos ingredientes da dieta. As exigências nutricionais foram mantidas para búfalas em lactação (KEARL, 1982; NRC, 2001; CAMPANILE et al., 2007). Os tratamentos foram formulados a partir de uma ração basal composta com base na matéria seca de: 32% de capim Napier picado (*Pennisetum purpureum*, Schumacher); 32,7% de resíduo de cervejaria; 19,4% de ração comercial (farelo de soja, sorgo integral, milho moído e minerais); 14,7% de cana picada (*Saccharum officinarum*); 0,7% de sal mineral comercial (Fosbov 30®) e NaCl (incluídos nos tratamentos 2 e 3).

O BCAD calculado para os tratamentos T120 e T190 foi formulado com o uso de bicarbonato de sódio, acrescentando-se 21,48 e 107,42 gramas por animal/dia, respectivamente, fornecidos juntamente com a ração comercial logo após a ordenha. Além disso, para atender as exigências nutricionais das búfalas foram acrescentados diariamente, 75 gramas de NaCl mais 75 gramas sal mineral comercial, fornecidos em cocho após a ordenha e água *ad libitum*. A alimentação diária total foi realizada em duas vezes (de manhã e à tarde).

Nos ingredientes da dieta foram determinados a matéria, extrato etéreo (por Soxhlet), proteína bruta, (método de micro-Kjeldahl) (NOGUEIRA; SOUZA, 2005), fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido (método ANKOM e as soluções por Van Soest, 1965, descritas por Silva, 1990), matéria mineral (pela incineração simples, Silva e Queiroz, 2002), e os níveis de Na, K, cálcio (Ca), S e magnésio (Mg), pelo método de preparação de amostra por digestão nítrico/peróxido (KRUG, 2010) e leitura por espectrômetro de emissão (ICP OES-da Baird, modelo ICP 2000, USA e visão radial, com fonte de radio frequência de 40 MHz), já o Cl pelo método de titulação (AOAC, 2007). As análises foram realizadas no Laboratório de Metabolismo Ruminal e Bromatologia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA-USP), e as de minerais no Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL).

A determinação da produção diária do leite foi feita semanalmente. A composição do leite foi realizada mensalmente com análises individual no leite de búfala, de gordura, lactose, proteína, sólidos totais (ST), extrato seco desengordurado (ESD) (equipamento de infravermelho, Bentley 2000), contagem de células somáticas (CCS) (contador eletrônico, Somacount 300®), na Clínica do Leite da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ-USP). A acidez (BRASIL, 2006), pH (utilizando pHmêtro portátil Misura line - Hanna Instruments Brasil), condutividade elétrica (por condutivímetro portátil digital com computador automático de temperatura gama de 0,0 a 199,9 MS/CM - Multi-range EC Meters) forma feitas no local da ordenha. Os minerais Na, K, Ca, S e Mg foram analisados no Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) em Campinas, utilizando técnica de Cava-Montesinos et al. (2005) e leitura por espectrômetro de emissão e para o Cl, o método de titulação (AOAC, 2007).

O delineamento experimental foi em blocos inteiramente casualizado, com três tratamentos e sete repetições. Os valores obtidos foram avaliados pelo PROC MIXED com especificação de estrutura de covariâncias entre tempos adequados, do software estatístico SAS (Statistical Analysis System) 9.2 e submetidos à análise de variância (ANOVA) a 5% de significância; quando detectada diferenças existentes entre os tratamentos pelo teste de F, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 10% de probabilidade.

6.3 Resultados e Discussão

Não houve diferenças significativas entre os tratamentos na produção de leite das búfalas em nenhuma das semanas avaliadas e nem nos valores médios de todo período experimental (Tabela 6.1). A média geral da produção de leite das búfalas dos tratamentos foi de 5,13 kg de leite/animal/dia, indicando animais de baixo potencial genético de leite. Entretanto, representa grande parte de búfalas exploradas para leite em sistemas de criação em pastagens no Brasil (MACEDO et al., 2001; JORGE et al., 2005; DAMÉ et al., 2011).

Não houve efeito das semanas dentro dos tratamentos, mas apenas na média geral. As búfalas apresentaram produção média de leite semelhantes ao longo da lactação durante o período experimental, exceto uma baixa produção verificada na 10ª. semana (3,92 kg/animal/dia), que refletiu uma falha ocorrida no manejo da ordenha. Entretanto, observa-se que o tratamento com maior nível de BCAD, T190, promoveu uma produção de leite mais constante com maiores valores absolutos até a sexta semana do que os outros dois tratamentos, indicando uma possível melhora da lactação em períodos iniciais do

fornecimento das dietas. Isso poderia refletir em uma melhora nas condições do ambiente ruminal aos microrganismos com posterior readaptação, permanecendo este achado a ser esclarecido. Para vacas em lactação segundo Tucker, Harrison e Hemken (1988), o máximo desempenho pode ser conseguido com BCAD entre +200 e +375mEq/kg/MS, entretanto, para Sanchez e Beede (1996), este valor se encontra entre +250 e +500mEq/kg/MS. Estes intervalos sugeridos foram próximos ao tratamento com +190 mEq/kg/MS utilizado no experimento.

Tabela 6.1 – Produção média de leite obtida das búfalas conforme as dietas com níveis crescentes de BCAD nas doze semanas avaliadas

Semana	Tratamentos			Média geral (EPM)
	T40 (EPM)	T120 (EPM)	T190 (EPM)	
	kg/animal/dia			
1	4,82 (0,99)	4,64 (0,99)	6,60 (1,06)	5,35 ^{abc} (0,58)
2	5,40 (0,39)	5,70 (0,37)	6,42 (0,36)	5,84 ^a (0,21)
3	5,27 (0,46)	5,40 (0,44)	6,07 (0,43)	5,58 ^{ab} (0,25)
4	5,68 (0,42)	4,95 (0,37)	6,16 (0,37)	5,60 ^{ab} (0,22)
5	5,68 (0,53)	4,60 (0,53)	5,84 (0,50)	5,37 ^{ab} (0,30)
6	4,91 (0,43)	4,90 (0,44)	4,99 (0,43)	4,93 ^{abc} (0,25)
7	4,87 (0,57)	4,52 (0,57)	4,24 (0,49)	4,54 ^{bc} (0,31)
8	4,98 (0,82)	5,18 (0,89)	4,27 (0,82)	4,81 ^{abc} (0,49)
9	5,15 (0,56)	5,20 (0,56)	4,48 (0,51)	4,94 ^{abc} (0,31)
10	3,50 (0,66)	4,40 (0,66)	3,86 (0,56)	3,92 ^c (0,36)
11	5,62 (0,86)	5,01 (0,86)	5,30 (0,75)	5,31 ^{abc} (0,47)
12	5,03 (0,42)	4,57 (0,38)	6,52 (0,46)	5,37 ^{ab} (0,24)
Média geral (EPM)	5,08 (0,35)	4,92 (0,35)	5,40 (0,33)	5,13 (0,20)
Mínimo	3,50	4,41	3,86	3,92
Máximo	5,70	5,70	6,60	5,58
Efeito (<i>P</i>)	NS			<0,001

T40 = +40 mEq/kg/MS; T120 = +120 mEq/kg/MS; T190 = +190 mEq/kg/MS; EPM= Erro padrão da média (entreparenteses); NS = Não houve diferenças significativas entres os tratamentos em qualquer semana avaliada ($p>0,05$).

Letras minúsculas subscritas diferentes entre as médias nas semanas para coluna média geral diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,10$).

Os resultados aqui encontrados reforçam as conclusões de outras pesquisas, como as realizadas por Borucki Castro et al. (2004), Chan et al. (2005) e Roche, Petch e Kay (2005), que trabalharam com vacas recebendo dietas com diferentes BCAD e não observaram aumento da produção de leite, assim como Hu et al. (2007) que testaram duas dietas com BCAD de +220 e +470 mEq/kg/MS em vacas no pós-parto e também não observaram efeitos no consumo de MS e na produção de leite.

Resultados diferentes foram sugeridos por Harris (1993), Block (1994), Tucker, Harrison e Hemken (1988) e West et al. (1992) comprovaram em seus experimentos que

dietas catiônicas aumentam a IMS, produção de leite e até reduziram os efeitos do estresse pelo calor. Assim, durante a lactação, as vacas apresentam altas taxas metabólicas (ambiente celular tende a tornar-se ácido) sendo necessário fornecer dietas altamente catiônicas (maiores níveis de Na e K em relação Cl e S), promovendo efeitos alcalinogênicos.

Apper-Bossard e Peyraud (2004) avaliaram dois níveis de concentrado (com 20% e 40% na MS) em dietas com três BCAD de 0, +150 e +300 mEq/kg de MS em vacas em lactação e observaram aumentos na produção de leite com o aumento BCAD, obtendo efeitos maiores com a dieta com 40% de concentrado, sugerindo que o aumento BCAD melhora o desempenho produtivo dos animais através de mudanças no equilíbrio ácido-base. Apper-Bossard et al. (2006) também observaram o mesmo efeito sugerindo que isso se deve ao efeito de tamponamento no rúmen, somado a capacidade do BCAD positivo em manter no sangue um equilíbrio do estado ácido-básico em vacas de alta produção. Apper-Bossard et al. (2010) concluíram que a IMS de vacas alimentadas com dietas de baixo BCAD em relação ao de alto BCAD foi limitada ao ter que manter o pH do sangue em uma faixa fisiológica. Zia et al. (2001) afirmaram que durante a lactação com aumento do BCAD, pode haver aumento da IMS, em função dos benefícios de alimentos catiônicos como volumosos (forrageira e concentrado), o que seria uma vantagem no sistema de produção brasileiro. Já Correa et al. (2014) também observaram aumento de consumo e da produção de leite com o aumento do BCAD, sendo que após o pico da lactação o aumento foi linear aos níveis crescentes do BCAD, porém notaram diferenças na eficiência alimentar entre os tratamentos.

Em um dos poucos estudos realizados com búfalas, Shahzad, Sarwar e Nisa (2008), no Paquistão verificaram a influência do BCAD, sobre a produção e composição do leite de búfalas da raça Nili-Ravi, no início da lactação, concluindo que tanto em búfalas como em vacas, o BCAD é um importante determinante do impacto da dieta sobre o estado ácido-básico sistêmico da lactação, que pode ser utilizado para melhorar a produtividade de búfalas leiteiras. A ingestão de nutrientes, pH da urina e do sangue, produção de leite e gordura do leite aumentaram linearmente com o aumento do BCAD (saída de uma dieta aniônica para uma catiônica).

Esses resultados corroboram com dados mais recentes publicados por Ganjkanlou, Nikkhah e Zali (2010) que realizaram estudo com vacas Holandesas em três dietas com BCAD de -130, 0 e +130 mEq/kg/MS. A produção de leite e as concentrações de gordura aumentaram com o aumento do BCAD, mas não houve efeito sobre a proteína e lactose no leite.

Os resultados relacionados à qualidade e minerais do leite de búfala estão dispostos na Tabela 6.2. Para a maioria das variáveis estudadas não houve diferença significativa entre os tratamentos, exceto para a condutividade elétrica, acidez titulável e níveis de sódio e cloro.

Tabela 6.2 – Composição e características físico-químicas do leite de búfala com dietas com níveis crescentes de BCAD positivo

Variáveis	Tratamento			Média geral (EPM)	Efeito (P) T	Efeito (P) T*S
	T40 (EPM)	T120 (EPM)	T190 (EPM)			
Gordura (%)	5,38 (0,59)	6,05 (0,56)	6,52 (0,52)	5,98 (0,32)	NS	NS
Proteína (%)	4,60 (0,19)	4,46 (0,18)	4,71 (0,17)	4,59 (0,10)	NS	NS
Lactose (%)	4,66 (0,12)	4,87 (0,11)	4,78 (0,11)	4,77 (0,06)	NS	NS
ST (%)	15,19 (0,63)	16,06 (0,60)	16,76 (0,56)	16,00 (0,34)	NS	NS
ESD (%)	10,00 (0,23)	10,00 (0,21)	10,24 (0,20)	10,08 (0,12)	NS	NS
CCS (mil cel./mL)	49 (29,96)	66 (25,48)	103 (25,25)	73 (15,58)	NS	NS
pH	6,66 (0,24)	5,90 (0,33)	6,68 (0,27)	6,41(0,16)	NS	NS
Cond. Elétrica	3,77 ^{ab} (0,11)	3,48 ^b (0,11)	3,87 ^a (0,09)	3,71 (0,06)	0,057	NS
Acidez Titulável *	15,52 ^b (0,06)	17,52 ^{ab} (0,08)	17,89 ^a (0,06)	16,99 (0,03)	0,04	NS
Cálcio (%)	0,179 (0,01)	0,169 (0,004)	0,177 (0,006)	0,175 (0,005)	NS	NS
Enxofre (%)	0,031 (0,001)	0,032 (0,001)	0,031 (0,001)	0,031 (0,001)	NS	NS
Magnésio (%)	0,016 (0,001)	0,015 (0,001)	0,015 (0,001)	0,016 (0,001)	NS	NS
Potássio (%)	0,088 (0,002)	0,086 (0,002)	0,086 (0,002)	0,086 (0,001)	NS	0,022
Sódio (%)	0,043 ^a (0,002)	0,035 ^b (0,002)	0,045 ^a (0,003)	0,041 (0,001)	0,01	NS
Cloro (%)	0,054 ^c (0,0005)	0,063 ^b (0,0005)	0,067 ^a (0,001)	0,061 (0,0003)	<0,001	NS

T40=+40 mEq/kg/MS; T120 = +120 mEq/kg/MS; T190 = +190 mEq/kg/MS; EPM = Erro padrão da média (entrepareses); ST = Sólidos Totais; ESD = Extrato seco desengordurado; CCS = Contagem de células somáticas; T = Tratamento; T*S = Efeito da interação entre o tratamento e a semana; NS - Não houve diferenças significativas ($p>0,05$); * = °D.

Letras minúsculas subscritas diferentes entre as médias nas semanas para coluna média geral diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,10$).

A condutividade elétrica foi maior no T190 (média=3,87) que T120 (média=3,48). O tratamento com menor BCAD (+40) promoveu menor acidez titulável (média=15,52°D) (Tabela 6.2). Os valores médios observados estão dentro do recomendado pela legislação do Estado de São Paulo, de 14 a 23°D, conforme (SÃO PAULO, 1994) não acarretando na alteração da qualidade do leite para a fabricação de derivados lácteos.

Com relação aos níveis de sódio, observa-se que os tratamentos T40 e T190 foram semelhantes entre si e diferentes de T120. Já as búfalas alimentadas com níveis crescentes de BCAD apresentaram níveis decrescentes de cloro no leite (Tabela 6.2). Mas, assim como para acidez, os valores encontrados estão dentro do descrito na literatura (PATIÑO et al., 2005; MEDHAMMAR et al., 2012), haja vista que na legislação não há

referencias para os níveis de cloro, não alterando a composição do leite de forma a comprometer a sua qualidade.

Estes resultados corroboram aos observados por West et al. (1992) que não observaram influência nos níveis do BCAD na composição do leite; Hu et al. (2007) nas composições de gordura, proteína, sólidos totais e sólidos desengordurados; Ganjkhanelou, Nikkhah e Zali (2010) em proteína e lactose no leite. Da mesma forma, Correa et al. (2006) observaram em vacas Holandesas em lactação, durante o verão, quatro níveis de dietas catiônicas (+150, +250, +400 e +500 mEq kg de MS), utilizando o bicarbonato de sódio para correção que não houve alteração na porcentagem de gordura do leite. Entretanto, diferente do observado neste experimento, verificaram que o pH do leite aumentou linearmente, e a acidez apresentou resposta cúbica com o aumento do BCAD.

Porém existem autores que relatam resultados diferentes demonstrando aumento do teor de gordura no leite com aumento do BCAD (KRZYWIECKI et al., 2005; ROCHE; PETCH; KAY, 2005, WANTERMAN et al., 1991; SHAHZAD; SARWAR; NISA, 2008; GANJKHANLOU; NIKKHAH; ZALI, 2010).

A média geral dos tratamentos para a gordura foi de 5,98%, proteína de 4,59%, lactose de 4,77%, ST de 16,00%, ESD 10,08%, CCS de 73 mil células/mL, pH de 6,41, condutividade elétrica de 3,71, acidez de 16,99 °D.

Cabe ressaltar que não existe legislação federal brasileira específica para o leite de búfala que determine os padrões de identidade e qualidade do mesmo. Até o momento somente o Estado de São Paulo (Brasil) possui legislação para definir alguns parâmetros, estabelecendo valores mínimos para gordura de 4,5%, acidez de 14 a 23°D, pH entre 6,4 e 6,87, extrato seco desengordurado (ESD) mínimo de 8,57%, densidade a 15°C de 1,028 a 1,034 e índice crioscópico entre 0,52 e 0,57, porém não é feita referência para outros constituintes, como a proteína, lactose, sólidos totais e minerais (SÃO PAULO, 1994).

As médias gerais dos minerais no leite de búfala foram para o Ca de 0,175%, S de 0,031%, Mg de 0,016%, K de 0,086 %, Na de 0,041% e Cl de 0,061%. Na literatura há também ampla variação nos teores dos diversos minerais existentes no leite de búfala, dependente dos teores de minerais presentes na dieta dos animais. No geral foram os mesmo valores encontrados por outros autores como Albonico et al. (1967-68 apud Zava, 2011) que observaram Ca de 0,203%, Mg 0,020 %, K de 0,139%, Na 0,075%, Cl 0,065%. Patiño et al. (2005) Ca 0,216%, Mg 0,014%, K de 0,101%, Na 0,030%. Medhammar et al. (2012) Ca de 0,191%, Mg 0,012%, Na 0,047%, Cl 0,057%.

Não houve efeito significativo entre a interação da semana com o tratamento em nenhuma das variáveis estudadas, com exceção para os níveis de potássio (Tabela 6.3). Neste caso, não houve diferença significativa entre os tratamentos durante a segunda semana, porém, na 6ª. semana, a média do nível de potássio foi maior no T120 (0,090%) que a T190 (0,079%) e igual ao T40 (0,085%). Já na 12ª. semana, T190 e o T40 foram iguais (0,084%) se diferenciando do T120 (0,076%) ($p < 0,05$).

Tabela 6.3 – Composição e características físico-químicas do leite de búfala ao longo do período experimental (2ª., 6ª. e 12ª. semanas)

Parâmetros	Semana			Efeito (<i>P</i>) Semana
	2ª. (EPM)	6ª. (EPM)	12ª. (EPM)	
Gordura (%)	4,44 ^b (0,39)	6,60 ^a (0,43)	6,91 ^a (0,43)	<0,001
Proteína (%)	4,72 ^a (0,11)	4,43 ^b (0,11)	4,62 ^{ab} (0,12)	0,012
Lactose (%)	4,89 ^a (0,05)	4,76 ^{ab} (0,09)	4,67 ^b (0,08)	0,006
Sólidos Totais (%)	15,02 ^b (0,41)	16,61 ^a (0,45)	16,38 ^a (0,46)	0,004
ESD (%)	10,58 ^a (0,16)	10,02 ^b (0,17)	9,64 ^b (0,18)	0,0004
CSS (mil cel./mL)	157 ^a (41,02)	30 ^b (6,77)	31 ^b (7,24)	0,012
pH	5,82 (0,48)	6,73 (0,03)	6,70 (0,02)	NS
Condutividade elétrica	3,68 (0,08)	3,84 (0,15)	3,60 (0,08)	NS
Acidez Titulável (°D)	19,09 ^a (0,09)	16,06 ^b (0,05)	15,79 ^b (0,06)	0,031
Cálcio (%)	0,188 (0,008)	0,173 (0,008)	0,165 (0,008)	NS
Enxofre (%)	0,031 (0,001)	0,032 (0,001)	0,031 (0,001)	NS
Magnésio (%)	0,015 (0,001)	0,015 (0,001)	0,016 (0,001)	NS
Potássio (%)	0,093 ^a (0,002)	0,085 ^b (0,002)	0,082 ^b (0,001)	0,002
Sódio (%)	0,040 (0,002)	0,042 (0,002)	0,041 (0,002)	NS
Cloro (%)	0,061 (0,001)	0,062 (0,001)	0,062 (0,001)	NS

ESD = extrato seco desengordurado; CCS = Contagem de Célula Somática; EPM = Erro padrão da média.

Valores médios seguidos por letras diferentes, diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,10$).

Houve efeito significativo entre as semanas para a gordura, proteína, lactose, ST, ESD, CCS, acidez titulável e potássio (Tabela 6.3).

Os teores de gordura e de sólidos totais no leite foram menores na segunda semana (médias 4,44% e 15,02%, respectivamente). Isso era esperado em virtude dessas variáveis aumentarem com a diminuição da produção de leite ao longo da lactação. A elevação dos teores de sólidos totais ao longo do experimento, demonstra a possibilidade de melhor rendimento na fabricação de queijos com leite de búfalas (SWAMINATHAN; PARPIA, 1968; COCKRILL, 1981; NASCIMENTO; CARVALHO, 1993).

Ao contrario do que aconteceu com a gordura, a proteína iniciou com teor maior na 2ª. semana (4,72%), reduzindo para a 6ª. semana (4,43%) e não mostrou diferença significativa para a 12ª. semana (4,62%). Com relação a lactose, a segunda semana

apresentou maior o teor médio (4,89%) que na última semana (4,67%). A lactose é o constituinte do leite que menos sofre alteração.

Houve diminuição a partir da segunda semana no ESD, CCS, acidez titulável e teores de potássio ao longo do período experimental (semanas 6 e 12).

No estudo das correlações entre as variáveis testadas, a gordura apresentou correlação com a lactose e os sólidos totais com coeficiente de correlação significativo ($P < 0,05$) de -0,52 e 0,93, respectivamente. Já a proteína teve coeficientes de correlações significativos com acidez, ESD, S e Mg, com os valores respectivos de 0,47, 0,63, 0,45 e 0,43. Lactose teve correlação com ESD e Mg de 0,83 e 0,44, respectivamente. O ESD teve correlação também com a acidez de 0,51 e com o Mg de 0,49. A CCS correlacionou-se com o Cl com coeficiente de 0,45. Foi observada também a correlação negativa entre as variáveis pH e acidez de -0,43; pH e o Ca de -0,47. A condutividade elétrica e o Na de 0,53, acidez e Mg de 0,53. O Ca teve correlação com o S de 0,72 e com o K de 0,51. O S com Mg de 0,50 e com o K de 0,43. O Mg com a acidez de 0,53 e com o K de 0,66.

6.4 Conclusão

Níveis crescentes de dietas catiônicas de +40 até +190 mEq/kg/MS não influenciam a produção, qualidade e minerais no leite de búfala, exceto a condutividade elétrica, acidez titulável e os teores de sódio e cloro.

Novas avaliações deverão ser propostas tendo em vista valores absolutos maiores observados em vários parâmetros quando os animais receberam dieta com mais alto BCAD.

Referências

APPER-BOSSARD, E.; PEYRAUD, J.L. Dietary cation-anion difference could enhance acid-base status of lactating dairy cows submit to a subacidosis. **J. Anim. Feed Sci.**, v.13, p.27-30, 2004.

APPER-BOSSARD, E.; PEYRAUD, J. L.; FAVERDIN, P.; MESCHY, F. Changing Dietary Cation-Anion Difference for Dairy Cows Fed with Two Contrasting Levels of Concentrate in Diets. **J. Dairy Sci.** v.89, p.749-760, 2006.

APPER-BOSSARD, E.; FAVERDIN, P.; MESCHY, F.; PEYRAUD, J.L. Effects of dietary cation-anion difference on ruminal metabolism and blood acid-base regulation in dairy cows receiving 2 contrasting levels of concentrate in diets. **Journal of dairy Science**, Champaign, v.93, n.9, p.4196-210, 2010.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis**. 18th.ed. Gaithersburg, 2005 revision, 2007. Chap. 4, p.8.

BLOCK, E. Manipulation of dietary cation-anion difference on nutritionally related production diseases, productivity, and metabolic responses of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.7, n.5, p.1437-1450, 1994.

BORUCKI CASTRO, S.I.; PHILLIP, L.E.; GIRARD, V.; TREMBLAY, A. Altering dietary cation-anion difference in lactating dairy cows to reduce phosphorus excretion to the environment. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.87, p.1751-1757, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa n° 68, de 12 de dezembro de 2006. Dispõe sobre os métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. **Diário Oficial da União**, Brasília, 14 dez. 2006, Seção 1, p. 8.

CAMPANILE, G.; BERNARDES, O.; BASTIANETTO, E.; BARUSELLI, P.S.; ZICARELLI, L.; VECCHIO, D. Manejo de Búfalas Leiteiras. **Buffalo Tec. Associação Brasileira de Criadores de Búfalos**. 74p, 2007.

CAVA-MONTESINOS, P.; CERVERA, M.L.; PASTOR, A. e de la; GUARDIA, M. Room temperature acid sonication ICP-MS multielemental analysis of milk. **Analytica Chimica Acta**, v.531, p.111-123, 2005.

CHAN, P.S.; WEST, J.W.; BERNARD, J.K.; FERNANDEZ, M. Effects of dietary cation-anion difference on intake, milk yield, and blood components of the early lactation cow. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.88, p.4384-4392, 2005.

CIIAGRO. **Portal Agrometeorológico e Hidrológico do Estado de São Paulo**. Disponível em: <http://www.ciiagro.org.br/diario/cperiodo>. Acesso em: 16 mar. 2015.

COCKRILL RW. The water buffalo: A review. **Br. Vet. J.**, London, v.137, p.8-16, 1981.

CORREA, L. B.; ZANETTI, M. A.; DEL CLARO, G. R.; PAIVA, F. A. D.; ELMOR, L. D. Balanço cátion-aniônico da dieta na composição do leite. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.5, p.1589-1593, 2006.

CORREA, L.B.; ZANETTI, M.A.; SARAN NETTO, A.; DEL CLARO, G.R.; PAIVA, F.A.; MARTINS, P.G.M.A. Effects of supplemental dietary sodium bicarbonate on performance of lactating Holstein cows during the summer season in Brazil. **Livestock Science**, v.169, p.78-82, 2014.

DEMÉ, M.C.F.; LIMA, C.T.S.; MARCONDES, C.R; RIBEIRO, M.E.R.; GARNER, A.D.V.; SANTOS, C.S. Produção e Qualidade de bubalinos no Rio Grande do Sul: dados preliminares. **Documento 296**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA-Clima temperado), Pelotas, 2011.

GANJKHANLOU, M.; NIKKHAH, A.; ZALI, A. Effect of dietary cation-anion balance on milk production and blood mineral of Holstein cows during the last two months of pregnancy. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 9, n. 36, p.5983-5988, 2010.

HARRIS Jr.; B. Dietary electrolyte balancing rations in the prepartum or late dry period. **Agri-Practice**, v.14, p.21-24, 1993.

HU, W.; MURPHY, M.R.; CONSTABLE, P.D.; BLOCK, E. Dietary cation-anion difference effects on performance and acid-base status of dairy cows postpartum. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.90, n.7, p.3367-75, 2007.

JORGE, A.M.; ANDRIGHETTO, C.; STRAZZA, M.R.B.; CORREA, R.C.; KASBURGO, G.; PICCININ, A.; VICTÓRIA, C.; DOMINGUES, P.F. Correlação entre o California Mastitis Test (CMT) e a Contagem de Células Somáticas (CCS) do Leite de Búfalas Murrah. **R. Bras. Zootec.**, Viçosa, v.34, n.6, p.2039-2045, 2005.

KEARL, L.C. **Nutrient requirements of ruminant in development countries**. Logan: Utah State University, 1982.

KRUG, F.J. **Métodos de preparo de amostras; fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar**. Editado por Francisco José Krug, 1 ed. Piracicaba, 2010, 340 f.

KRZYWIECKI, S.; BODARSKI, R.; PRES, J.; LUCZAK, W. The relationship between cation-anion differences in dairy cow diets and some blood indices levels and milk composition. **J. Anim. Feed Sci.**, Poland, v.14, p.271-274, 2005.

MACEDO, M.P.; WECHSLER, F.S.; RAMOS, A. de A.; AMARAL, J.B. do; SOUZA, J.C. de; RESENDE, F.D. de; OLIVEIRA, J.V. de. Composição Físico-Química e Produção do Leite de Búfalas da Raça Mediterrâneo no Oeste do Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.30, n.3, p.1084-1088, 2001.

MEDHAMMAR, E.; WIJESINHA-BETTONI, R.; STADLMAYR, B.; NILSSON, E, CHARRONDIÈRE, U.R.; BURLINGAME. Composition of milk from minor dairy animals and buffalo breeds: a biodiversity perspective. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 92, p. 445–474, 2012.

NASCIMENTO, C.N.B.; CARVALHO, L.O.M. **Criação de búfalos: alimentação, manejo, melhoramento e instalações**. Brasília: EMBRAPA – SPI, 1993.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrients requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washington, D.C. National Academy of Sciences, 2001.

NOGUEIRA, A.R.A.; SOUZA, G.B. **Manual de Laboratório: Solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 334p, 2005.

PATIÑO, E.M.; FAISAL, E.L.; CEDRES, J.F.; MENDEZ, F.I.; GUANZIROLI STEFANI, C. Contenido mineral de leche de búfalas (*Bubalus bubalis*) en Corrientes, Argentina. **Rev. Vet.**, Buenos Aires, v.16, n.1, p.40-42, 2005.

ROCHE, J.R.; PETCH, S.; KAY, J.K. Manipulating the dietary cation-anion difference via drenching to early lactation dairy cows grazing pasture. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.88, p.264-276, 2005.

SANCHEZ, W.K.; BEEDE, D.K.. Is there an optimal cation-anion difference for lactation diets?. **Animal Feed Science and Technology**, v.59, p.3-12, 1996.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Agricultura e Abastecimento. **Resolução SAA nº 24 de 01 de agosto, 1994**. Dispõe sobre as normas técnicas de produção e classificação dos produtos de origem animal e as relativas às atividades de fiscalização e inspeção dos produtos de origem animal. Cap.7, Artigo 134, 1994. Disponível em: <<http://www.cda.sp.gov.br/www/legislacoes/popup.php?action=view&idleg=33>>. Acesso em: 13 ago. 2012.

SHAHZAD, M.A.; SARWAR, M.; NISA, M. Influence of altering dietary cation anion difference on milk yield and its composition by early lactating *Nili-Ravi* buffaloes in summer. **Livestock Science**, v.113, p.133-143, mar., 2008.

SILVA, D.J. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. Viçosa: UFV, 1990.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análises de alimentos: Métodos químicos e biológicos**, ed. 3, UFV, Viçosa, 2002.

SWAMINATHAN M.; PARPIA H.A.B. Buffalo Milk: its nutritive value and use in the production of infant foods. **World Rev. Nutr. Diet.** Basel, v.9, p.206-226, 1968.

TUCKER, W.B.; HARRISON, G.A.; HEMKEN, R.W. Influence of dietary cation-anion balance on milk, blood, urine and rumen fluid in lactating dairy cattle. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.71, p.346-354, 1988.

WATERMAN, D.F.; SWENSON, T.S.; TUCKER, W.B.; HEMKEN, R.W. Role of magnesium in the dietary cation-anion balance equation for ruminants. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.74, n.6, p.1866-1873, 1991.

WEST, J.W.; HAYDON, K.D.; MULLINIX, B.G.; SANDIFER, T.G. Dietary cation-anion balance cation source effects on production and acid-base status of heat-stressed cows. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.75, p.2276-2786, 1992.

ZAVA, M. **El búfalo doméstico**. Buenos Aires: Orientacion, 2011, p.303-399.

ZIA, U.H.; SARWAR, M.; ZAFAR, I.; BILAL, M.Q.; CHATHA, Z.A. Dietary cation-anion balance in the ruminants II – effects during mid-lactation and dry period. **International Journal of Agriculture and Biology**, Faisalabad, v.3, p.143-148, 2001.

CAPÍTULO 7 : Caracterização da produção, qualidade e minerais do leite na curva de lactação de búfalas em dieta com baixo balanço cátion-aniônico dietético (BCAD)

CAPÍTULO 7 CARACTERIZAÇÃO DA PRODUÇÃO, QUALIDADE E MINERAIS DO LEITE NA CURVA DE LACTAÇÃO DE BÚFALAS EM DIETAS CATIÔNICAS COM BAIXO BALANÇO CÁTION-ANIÔNICO DIETÉTICO (BCAD)

7.1 Introdução

A bubalinocultura é uma atividade que vem crescendo pela facilidade de adaptação dos animais às condições ambientais, à docilidade, à rusticidade e à qualidade do leite. A produção mundial de leite de búfala *in natura* em 2000 foi de 66,5 milhões de toneladas e em 2010 saltou para 92,5 milhões de toneladas (FAO, 2012). Cerca de 30% das criações de búfalos no Brasil são destinadas à produção leiteira (ABCB, 2011) e a expansão da bubalinocultura têm sido expressiva em regiões em que a cadeia agroindustrial de derivados lácteos é organizada (BERNARDES, 2007).

O leite de búfala possui características peculiares com maiores teores de sólidos totais, principalmente gordura e proteína, o que o torna mais nutritivo e com maior rendimento industrial que o leite de vaca (TEIXEIRA et al., 2005; ANDRADE et al., 2011). Conhecer a produção e qualidade do leite das búfalas é fator importante para se alcançar o sucesso na bubalinocultura leiteira, porém, poucas pesquisas relacionadas a este assunto são realizadas (BERNARDES, 2007). Sabe-se que a produção e composição do leite de búfala varia em função da genética, estágio de lactação (DUBEY et al., 1997), período do ano (BASTIANETTO et al., 2005), raça, nutrição, número de ordenhas, manejo, entre outros (AKBAR et al., 1999).

O estágio da lactação é um dos principais fatores que influenciam na produção e composição físico-química do leite de búfala,. Alterações parecem ocorrer em proporções muito maiores do que às observadas em bovinos (NADER FILHO et al., 1996; FARIA et al., 2002; CERÓN-MUÑOZ et al., 2002; CAMPANILE et al., 2007).

As características da curva de lactação das búfalas necessitam ser esclarecidas com pesquisas realizadas em diversos sistemas de alimentação, manejo e distribuição geográficas de criações de búfalos. Da mesma forma que em vacas, as búfalas aumentam a produção de leite até atingirem um pico de lactação ao redor de seis semanas, declinando em seguida (CASTILHO et al., 2002). Entretanto, não se conhecem como e as causas envolvidas nessa queda de produção. A contagem de células somáticas (CCS) e a composição químicas são atributos ligados à qualidade do leite. Segundo Ruegg (2003) a variação da CCS durante a

lactação é pouco conhecida e há divergência de resultados. Isso se deve a existência de fatores intrínsecos e extrínsecos de variabilidade da composição do leite.

Assim, este trabalho teve objetivo de caracterizar a produção, qualidade e minerais do leite ao longo da curva de lactação de búfalas em dietas catiônicas com baixo balanço cátion-aniônico dietético (BCAD) em rebanho comercial de produção de leite de búfala no Estado de São Paulo.

7.2 Material e Métodos

Os dados utilizados no experimento foram coletados de 2012 a 2013, durante 365 dias (uma lactação), em propriedade particular de bubalinocultura leiteira (com programa de nutrição e melhoramento genético), localizada na região central de São Paulo, Brasil, com temperatura média de 21,93°C (máxima de 28,81°C e mínima de 15,05°C) e precipitação acumulada de 2.302,06mm (CIIAGRO, 2015). Foram utilizadas 206 búfalas em lactação, sendo 115 com parição no primeiro semestre e 91 no segundo semestre do ano, mestiças da raça Murrah e Mediterrâneo, com produção de leite média de 8 kg/animal/dia, peso médio de 650 kg e ingestão de Matéria Seca (MS) estimada em 2,4% do peso vivo.

O sistema de ordenha foi realizado em ordenhadeira tipo balde ao pé em circuito fechado com a presença do bezerro duas vezes ao dia (5h e 13h) seguindo as técnicas de boas práticas de ordenha. Os animais foram alimentados em dieta basal atendendo as exigências nutricionais para búfalas em lactação (KEARL, 1982; NRC, 2001; CAMPANILE et al., 2007), composta (em base na MS) de *Brachiaria brizantha* (21,66%), cana de açúcar picada (*Saccharum officinarum*) (36,62%), resíduo de cervejaria (26,26%), NaCl (0,88%) e ração comercial (14,58%), constituída de farelo de milho e algodão, suplemento proteico (Refinazil®), uréia, calcário e minerais. As búfalas foram mantidas em pastejo rotacionado de *Brachiaria brizantha*, água *ad libitum* e após as ordenhas recebiam os demais alimentos. Os alimentos da dieta foram amostrados conforme Rodrigues (2010), já para as forragens foi utilizado o método do pastejo simulado (com coleta de dez amostras de locais diferentes).

O BCAD foi calculado pela equação $(Na+K)-(Cl+S)/mEq/kg$ de MS (BLOCK, 1994). Os níveis de Na, K, Ca, S e Mg foram determinados nos ingredientes pelo método de preparação de amostra por digestão nítrico/peróxido (KRUG, 2010) e leitura por espectrômetro de emissão (ICP OES-da Baird, modelo ICP 2000, USA e visão radial, com fonte de radio frequência de 40 MHz) e o Cl por titulação (AOAC, 2007) no Instituto de Tecnologia de

Alimentos (ITAL). O BCAD se manteve constante ao longo do período experimental com média de +83 mEq/kg/MS.

No Laboratório de Metabolismo Ruminal e Bromatologia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA-USP) foram realizadas as análises bromatológicas dos ingredientes determinando em duplicata a MS, extrato etéreo (EE) por Soxhlet, matéria mineral (MM) por incineração simples (SILVA; QUEIROZ, 2002), proteína bruta (PB) pelo método de micro-Kjeldahl (COMPÊNDIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 1998), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) pelo método ANKOM e as soluções por Van Soest (1965) descritas por Silva (1990) e os nutrientes digestíveis totais (NDT) pela fórmula: %proteína bruta digestível (PBD) + % fibra em detergente neutro verdadeiramente digestível (FDN_vD) + % carboidrato não fibroso digestível (CNFD) + $2,25 \times$ % extrato etéreo digestível (EED) (NRC, 2001).

Os parâmetros avaliados foram a produção acumulada do leite das búfalas e a produção diária individual do leite das búfalas ao longo da lactação (medida 3 vezes a cada 30 dias), através de medidores da ordenha. A curva de lactação das búfalas foi dividida em quatro períodos, ≤ 90 , 91 a 180, 181 a 270 e 271 a 365 dias de lactação, além da divisão mensal. No leite coletado individualmente de todas as búfalas da ordenha da manhã foram analisados os parâmetros de qualidade relacionados os teores de gordura, lactose, proteína, ST, ESD, CCS, acidez titulável, pH e condutividade elétrica e os minerais (Na, K, Ca, Cl, S e Mg) avaliados com 90, 180 e 270 dias de lactação. A acidez titulável, pH e condutividade elétrica foram realizadas em amostras coletadas de 30 búfalas escolhidas ao acaso, enquanto que cinco amostras foram coletadas para análise dos minerais.

Os teores de gordura, lactose, proteína, ST e ESD no leite de búfala foram determinados por infravermelho (Bentley 2000) a CCS por contador eletrônico (Somacount 300®), acidez titulável por Brasil (2006), pH através de pHômetro portátil (Misura line - Hanna Instruments Brasil) e a condutividade elétrica por condutivímetro portátil digital com computador automático de temperatura gama de 0,0 a 199,9 MS/CM (Multi-range EC Meters). Análises de Na, K, Ca, S e Mg foram realizadas no ITAL, utilizando técnica de Cava-Montesinos et al. (2005) e leitura por espectrômetro de emissão e Cl pelo método de titulação (AOAC, 2007). As análises de acidez titulável, pH e condutividade elétrica no leite foram realizadas à campo e as demais na Clínica do Leite da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ-USP) credenciado à Rede Brasileira de Qualidade do Leite (RBQL).

Os dados foram submetidos à análise da variância pelo PROC MIXED (medidas repetidas ao longo do tempo) considerando-se os fatores acima descritos, no desdobramento da análise foi utilizado o teste de Tukey a 5% de probabilidade (Statistical Analysis System, SAS 9.3). Os dados da qualidade foram submetidos ao PROC GLM para análise de correlação a $p < 0,05$.

7.3 Resultados e Discussão

Na Tabela 7.1 estão apresentados os resultados da produção acumulada, produção diária do leite das búfalas nos períodos ≤ 90 , 91 a 180, 181 a 270 e 271 a 365 dias de lactação, a produção da lactação e a média da produção diária do leite do rebanho total e das paridas no 1º e 2º semestre.

Tabela 7.1 – Produção acumulada e diária do leite das búfalas do rebanho total e das paridas no 1º e 2º semestre nos períodos ≤ 90 , 91 a 180, 181 a 270 e 271 a 365 dias de lactação

Períodos da lactação (dias)	Produção acumulada durante a lactação (Litros/animal)								
	Rebanho total			Paridas no 1º semestre			Paridas no 2º semestre		
	Média	EPM	Prop.(%)	Média	EPM	Prop.(%)	Média	EPM	Prop.(%)
≤ 90	1.096 ^a	11,25	40 ^a	1.103 ^{a/m}	15,04	40 ^{a/o}	1.084 ^{a/m}	15,91	39 ^{a/o}
91 a 180	976 ^b	9,20	35 ^b	941 ^{b/n}	11,95	34 ^{b/p}	1.013 ^{b/m}	12,65	36 ^{b/o}
181 a 270	608 ^c	11,27	21 ^c	611 ^{c/m}	15,16	22 ^{c/o}	607 ^{c/m}	16,21	21 ^{c/o}
271 a 365	239 ^d	0,10	8 ^d	190 ^{d/n}	15,01	6 ^{d/p}	295 ^{d/m}	16,66	9 ^{d/o}
Total	2.919	21,08	100	2.845	28,71	100	2.999	30,88	100
Produção diária durante a lactação (Litros/animal/dia)									
≤ 90	12,2 ^a	0,12	-	12,3 ^{a/m}	0,17	-	12,1 ^{a/m}	0,18	-
91 a 180	10,6 ^b	0,10	-	10,2 ^{b/n}	0,13	-	11,1 ^{b/m}	0,13	-
181 a 270	7,0 ^c	0,10	-	7,0 ^{c/m}	0,14	-	7,1 ^{c/m}	0,15	-
271 a 365	4,3 ^d	0,12	-	4,3 ^{d/m}	0,16	-	4,4 ^{d/m}	0,17	-
Média	8,5	0,05	-	8,4	0,07	-	8,6	0,08	-

EPM = Erro padrão da média; Prop. (%) = Porcentagem da produção acumulada.

Médias com letras minúsculas (a, b, c e d) diferentes na mesma coluna diferem entre si ($p < 0,05$).

Médias com letras minúsculas (m e n) diferentes na mesma linha e na coluna Média das búfalas paridas no 1º e 2º semestre diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Médias com letras minúsculas (o e p) diferentes na mesma linha e na coluna Prop. das búfalas paridas no 1º e 2º semestres diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A produção de leite na lactação total, do rebanho total e das búfalas paridas no 1º e 2º semestre foram, respectivamente, de 2.919, 2.845 e 2.999 litros/animal, com média de produção diária de 8,5, 8,4 e 8,6 litros/animal e média geral de 273 dias de lactação. Comparando as médias das búfalas paridas no 1º e 2º semestre deve-se levar em consideração o período da lactação, pois, no período de 91 a 180 dias a produção acumulada e diária, assim como no período de 271 a 365 dias a produção acumulada foram maiores nas

búfalas paridas no 2º semestre do ano, para os demais períodos são iguais para ambos os grupos de búfalas (Tabela 7.1).

Houve diferença entre os períodos da lactação para o rebanho total e para as búfalas paridas no 1º e 2º semestres com relação a produção acumulada e sua proporção e para a produção diária de leite. Os valores médios são maiores nos primeiros 90 dias de lactação, declinando em seguida demonstrando uma curva de lactação. As médias para os períodos ≤ 90 , 91 a 180, 181 a 270 e 271 a 365 dias de lactação do rebanho geral para a produção acumulada foram de 1,096, 976, 608 e 239 litros/animal, com proporção de 40, 35, 21 e 8 %, e produção diária de 12,2, 10,6, 7,0 e 4,3 litros/animal/dia, respectivamente (Tabela 7.1).

Esses dados suportam que a curva de lactação das búfalas se inicia com uma fase ascendente com alta produção nos 100 primeiros dias de lactação atingindo o pico em seis semanas e posterior declínio e secagem (CASTILHO et al., 2002).

Os dados obtidos apresentaram semelhança aos encontrados por Rangel et al. (2011) que identificaram produção média diária de búfala da raça Murrah, no Rio Grande do Norte de 7,93 a 8,22 litros/animal/dia. Segundo Bastianetto et al. (2005), no Brasil, a produção média de leite de búfalas é de 6,0 litros animal/dia (lactações de 270 dias), sendo que búfalas que produzam média de 7,0 litros diários podem ser consideradas excelentes produtoras de leite, visto os sistemas de produção utilizados no país, que são somente a pasto, sem suplementação alimentar, nutrição adequada e ausência de um programa de melhoramento genético eficiente.

Outras pesquisas relatam valores ainda inferiores. Macedo et al. (2001) e Jorge et al. (2005) relataram produção diária de leite de búfalas da raça Murrah criadas no Estado de São Paulo, de 4,37 e 3,94 litros e produção total de 1.162 litros e 724 a 1.403 litros, respectivamente com 270 dias de lactação. Ainda em São Paulo Lamontagna e Franzolin (2009) citaram produções médias de 4,84 litros/dia/animal, já Damé et al. (2011) observaram produção média diária de 3,1 a 6,68 litros/dia/animal e de 836 a 1.803 litros total por búfala com 270 dias de lactação. Esta diferença entre os resultados ocorre devido a influencia de vários fatores, entre eles, fatores genéticos, estágio de lactação e período do ano (DUBEY et al., 1997), raça, nutrição e alimentação, número diário de ordenhas e manejo (AKBAR et al., 1999).

A produção média diária de leite mensal ao longo da lactação das búfalas do rebanho total e das paridas no 1º e 2º semestres podem ser observadas na Tabela 7.2. Não houve diferença significativa entre as búfalas paridas no 1º e 2º semestre em nenhum mês

avaliado, mas diferença significativa foi observada entre a média geral dos 12 meses, no qual as búfalas paridas no 2º semestre tiveram média diária superior (8,5 litros/animal) que as búfalas paridas no 1º semestre (8,0 litros/animal), mantendo média geral do rebanho de 8,3 litros/animal/dia.

Tabela 7.2 – Produção média diária mensal de leite de búfala do rebanho total e das búfalas paridas no 1º e 2º semestre

Meses	Parição das búfalas						Rebanho total das búfalas					
	1º semestre			2º semestre			Med.	%R	Máx.	Mín.	EPM	
	Média	%R	EPM	Med.	%R	EPM						
	litros/animal/dia											
1	11,7 ^b	0	0,29	11,1 ^b	0	0,31	11,4 ^b	0	18,8	6,0	0,21	
2	12,7 ^a	8,5	0,29	12,4 ^a	11,7	0,30	12,5 ^a	9,6	21,4	7,6	0,21	
3	12,4 ^a	-2,4	0,29	12,7 ^a	2,4	0,31	12,5 ^a	0,0	23,4	7,0	0,21	
4	11,6 ^b	-6,5	0,29	12,3 ^b	-3,1	0,31	11,9 ^b	-4,8	20,0	6,6	0,21	
5	10,1 ^c	-12,9	0,29	11,1 ^c	-9,8	0,31	10,6 ^c	-10,9	21,4	5,0	0,21	
6	9,0 ^d	-10,9	0,29	9,8 ^d	-11,7	0,31	9,4 ^d	-11,3	18,0	3,0	0,21	
7	8,1 ^e	-10,0	0,29	8,4 ^e	-14,3	0,31	8,2 ^e	-12,8	15,4	3,0	0,21	
8	7,2 ^f	-11,1	0,29	7,1 ^f	-15,5	0,32	7,1 ^f	-13,4	14,2	1,8	0,22	
9	5,6 ^g	-22,2	0,31	5,5 ^g	-22,5	0,33	5,6 ^g	-21,1	11,6	1,0	0,23	
10	4,1 ^h	-26,8	0,37	4,5 ^h	-18,2	0,40	4,3 ^h	-23,2	9,6	1,0	0,27	
11	3,3 ⁱ	-19,5	0,59	3,6 ⁱ	-20,0	0,49	3,4 ⁱ	-20,9	9,0	1,0	0,38	
12	0,9 ⁱ	-72,7	1,36	3,7 ⁱ	2,8	0,7	2,3 ⁱ	-32,4	9,0	1,6	0,76	
Média	8,0 ^B	-	0,19	8,5 ^A	-	0,17	8,3	-	23,4	1,0	0,13	

%R. = porcentagem em relação ao mês anterior; EPM = Erro padrão da média; Máx. = Valor máximo; Mín. = Valor mínimo.

Medias seguidas com letras minúsculas diferentes na mesma coluna e por letras maiúsculas na mesma linha diferem entre si (p<0,05).

Tanto para as paridas no 1º e 2º semestres quanto para o rebanho total, os animais apresentaram ao final do primeiro mês de lactação alta média diária de produção (11,4 litros/animal), crescendo até o final do segundo mês (12,7 litros/animal) e mantendo durante o terceiro mês (12,4 litros/animal) e declinando em seguida. Assim, o pico de produção foi atingido entre a 8ª. e 12ª. semanas de lactação. (Tabela 7.2 e Figura 7.1). Estes dados são semelhantes aos descritos por Castilho et al. (2002), porém difere quanto ao pico da lactação em que eles observaram ocorrer na sexta semana da lactação.

O valor máximo de produção observado no pico da lactação no rebanho total foi de 21,4 e 23,4 litros/animal/dia e o mínimo de 7,6 e 7,00 litros/animal/dia (Tabela 7.2), mostrando a presença de animais bubalinos de alta seleção genética. Interessante resultado deve ser ressaltado na análise da curva de lactação que pode ser dividida em quatro fases, exceto a produção de leite observada no 12º. mês, já que se trata de animais em secagem de leite: Fase (1) de 0 ao 3º. mês da lactação com aumento na produção mensal em média de 4,8% em relação ao mês anterior; Fase (2) do durante o 4º. mês da lactação com leve declínio

de 4,8% do mês anterior; Fase (3) do 5º. ao 8º. mês com médio declínio mensal de 12,1% e Fase (4) do 9º. ao 11º. mês da lactação com forte queda média mensal de 21,7% (Tabela 7.2 e Figura 7.2). Dessa forma, a curva de lactação é um importante fator na compreensão do sistema produtivo das búfalas, já que auxilia na previsão da produção de leite em determinada fase da lactação e na tomada de decisões quanto à seleção genética de animais e nas práticas de manejo e comercial do sistema de produção.

Figura 7.1 – Curva da lactação do rebanho total de búfalas com os valores médios, mínimos e máximos.

Figura 7.2 – Desempenho da curva de lactação de búfalas (porcentagem de produção de leite em relação ao mês anterior).

Comparando as búfalas paridas no 1º e 2º semestres não houve diferenças significativas ($p>0,05$) nos dias 90, 180 e 270 da lactação referentes aos teores no leite de gordura, lactose, proteína, ST, ESD e CCS (Tabela 7.3). Para rebanho total de búfalas, as médias dos dias 90, 180 e 270 de lactação dos teores de gordura, lactose, proteína, ST, ESD e

CCS no leite foram de 5,7%, 4,8%, 4,5%, 16%, 10,3% e 204 mil/células/mL de leite, respectivamente.

Tabela 7.3 – Teores de gordura, lactose, proteína, ST, ESD e CCS do leite das búfalas do rebanho total e das búfalas paridas no 1º e 2º semestres com 90, 180 e 270 dias da lactação

Itens	Período da lactação													
	90 dias				180 dias				270 dias				MG	EPM
	Med.	EPM	Max.	Min.	Med.	EPM	Max.	Min.	Med.	EPM	Max.	Min.		
Rebanho total de búfalas														
Gor. %	5,2 ^b	0,19	14,5	2,3	5,8 ^a	0,18	9,0	2,1	6,2 ^a	0,19	9,1	3,1	5,7	0,11
Lac. %	4,9 ^a	0,03	5,3	4,3	4,8 ^b	0,04	5,4	3,2	4,7 ^c	0,06	5,4	1,9	4,8	0,03
Prot. %	4,2 ^b	0,05	5,6	2,9	4,6 ^a	0,04	6,4	3,8	4,6 ^a	0,05	5,9	3,5	4,5	0,03
ST %	15,4 ^b	0,19	23,1	12,7	16,2 ^a	0,18	19,7	12,6	16,5 ^a	0,20	19,7	11,5	16,0	0,12
ESD %	10,1 ^b	0,05	11,0	7,9	10,4 ^a	0,06	12,1	8,3	10,3 ^{ab}	0,09	11,6	7,0	10,3	0,04
CCS*	200	32,7	1734	16	168	28,0	1437	1	244	56,5	2743	3	204	23,8

Med. = Média; MG = Média geral; EPM = Erro padrão da média; Max. = Valor máximo; Min. = Valor mínimo; * = mil/cel./mL).

Médias com letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si (p<0,05).

No Brasil não há legislação federal que determine o padrão de identidade e qualidade para leite de búfala cru, porém, o Estado de São Paulo possui legislação que defini alguns parâmetros, com valores mínimos para gordura de 4,5%, acidez titulável de 14 a 23°D, pH entre 6,4 e 6,87, ESD mínimo de 8,57%, densidade a 15°C de 1,028 a 1,034 e índice crioscópico entre 0,52 e 0,57 (SÃO PAULO, 1994).

Para leite de búfala não existe qualquer legislação que estabelece padrões para a CCS. De acordo com Medeiros et al. (2011), pode-se considerar búfalas com saúde da glândula mamária amostras de leite com CCS até 280.000 células/ml de leite. Acima deste valor é indicativo de alguma infecção subclínica.

Os valores encontrados no presente experimento estão de acordo aos encontrados com bubalinos por diversos pesquisadores no mundo. Tonhatti et al. (2000) no Brasil observaram valores de 6,87% ($\pm 0,88$) de gordura e 3,9% ($\pm 0,61$) de proteína no leite de búfala. Macedo et al. (2001) verificaram valores de 6,59% de gordura, 4,1% de proteína, 17,01 % de ST e 10,47% de ESD. Araújo (2012) no Brasil de 7,06% ($\pm 0,11$) de gordura, 4,32% ($\pm 0,04$) de proteína e 16,84% ($\pm 0,17$) de ST. Palomino e Sangama (2002) avaliando búfalas no Peru observaram médias de 6,22% de gordura, 4,97% proteína, 4,05% de lactose, 15,89 de ST e 9,67% de ESD. Patiño (2004) na Argentina, de 7,22% de gordura, 3,85% de proteína, 4,49% de lactose, 16,35% de ST e 9,13% ESD. Han et al. (2007) na China, obtiveram valores médios de 6,57% ($\pm 1,21$) de gordura, 4,27% ($\pm 0,43$) de proteína, 5,07% ($\pm 0,13$) de lactose, 16,69% ($\pm 1,22$) de ST e 10,33% de ESD. Ahmad et al. (2008) na França

encontraram dados médios de 7,0% ($\pm 0,06$) de gordura e 5,21% ($\pm 0,11$) de lactose, enquanto que Tripaldi (2010) na Itália, de 7,47% ($\pm 1,54$) de gordura, 4,50% ($\pm 0,42$) de proteína e 4,78% ($\pm 0,31$) de lactose e Khan et al. (2011) no Paquistão, valores de 7,47% ($\pm 0,87$) de gordura, 3,31% ($\pm 0,13$) de proteína e 5,24% ($\pm 0,15$).

Na evolução dos constituintes do leite ao longo da lactação observaram-se aumentos nos teores de gordura, proteína, sólidos totais e extrato seco desengordurado de 90 para 180 dias de lactação e mantendo os valores médios até o final da lactação aos 270 dias. Os teores de lactose diminuíram ao longo da lactação e a CCS não se alterou (Tabela 7.3). Estes dados são semelhantes aos descritos por Cerón-Muñoz et al. (2002) e Amaral (2005).

Cerón-Muñoz et al. (2002) e Amaral (2005) os quais afirmaram que a CCS varia entre os diferentes estádios de lactação valores aumentando de forma gradativa em direção ao final da lactação, em função do volume de leite decrescer no final da lactação, ocorrendo um aparente incremento do número de células em virtude da concentração de células em um volume menor de leite.

Os estudos das correlações entre as variáveis relacionadas com a qualidade mostraram correlações significativas ($p < 0,05$) entre o teor de gordura e o ST ($r = 0,95$) e correlações negativas com a lactose ($r = -0,78$) e com o ESD ($r = -0,48$). A proteína houve correlação positiva com ESD ($r = 0,86$), pH ($r = 0,46$) e condutividade elétrica ($r = 0,63$). A lactose teve correlações significativas com ST ($r = -0,75$), com CCS ($r = -0,47$) e com pH ($r = -0,63$). Houve ainda correlações entre as variáveis ST e pH ($r = 0,39$); ESD com CCS ($r = -0,54$) e com condutividade elétrica ($r = 0,52$) e entre o pH e a condutividade elétrica ($r = 0,51$). Jorge et al. (2005) não observaram entre a CCS e os teores de proteína e gordura, concordando com os achados nesta pesquisa.

Somente o pH e condutividade elétrica no leite do total de búfalas e a acidez titulável das búfalas paridas no 2º semestre apresentaram variação ao longo da lactação. Os valores de pH e condutividade elétrica foram maiores em 270 da lactação e não diferiram de 90 dias, demonstrando que iniciam a lactação com maiores valores, depois há uma queda e logo em seguida volta a aumentar.

Para a acidez titulável nas búfalas paridas no 2º semestre as amostras de leite apresentaram valores médios iniciais de 17,9ºD com 90 dias da lactação, aumentando para 20,7ºD aos 180 dias e se mantendo aos 270 dias da lactação.

Os valores da média geral do pH, acidez titulável e condutividade elétrica no total das búfalas foram respectivamente, de 6,7 (variação de 4,0 a 7,1 e EPM de 0,06), 19,8ºD (variação de 12 a 26ºD e EPM de 0,45ºD) e 4,1 (variação de 1,8 a 11,9 e EPM de

0,21). Até o momento somente o Estado de São Paulo possui legislação para definir os valores para a acidez titulável em leite de búfala que é de 14 a 23°D e pH variando de 6,4 a 6,87 (SÃO PAULO, 1994).

Os valores observados estão próximos com os obtidos por Macedo et al. (2001) que observaram no leite de búfala com acidez titulável de 18,98°D; Palomino e Sangama (2002) de 16°D e pH de 6,72; Patiño (2004) de 19,65°D (± 2.96) e 6,71 ($\pm 0,16$); Ahmad et al. (2008) pH de 6,81 ($\pm 0,06$); Han et al. (2007) de pH 6,53 ($\pm 0,28$); Tripaldi (2010) de pH 6,67 ($\pm 0,10$) e Hussain et al. (2012) de pH 6,80 ($\pm 0,02$).

Não há um valor fixo fisiológico para a condutividade elétrica do leite que possa ser utilizado para todos os animais do rebanho (FERNANDO; RINDDSIG; SPAHR, 1982). A condutividade elétrica baseia-se no princípio, de que vacas com mastite apresentam alteração na carga iônica do leite. Esse quadro determina aumento na concentração de sódio e cloro no leite e redução nos níveis de potássio e lactose, gerando, assim, aumento na condutividade elétrica (SANTOS; FONSECA, 2007).

Para os níveis dos minerais Ca, K, Na, S e Mg no leite de búfala do rebanho total não houve diferença entre os dias 90, 180 e 270 da lactação ($p > 0,05$), ou seja, os níveis destes minerais se mantiveram constantes durante toda a lactação. Já o Cl se manteve constante nos 90 e 180 dias de lactação, com média de 0,065% e aos 270 dias de lactação caiu para 0,056% se diferenciando dos demais.

As médias gerais dos minerais no leite de búfala do rebanho total foram para o Ca de 0,158% (EPM de 0,004%), K de 0,084% (EPM de 0,004%), Na de 0,050% (EPM de 0,006%), S de 0,030% (EPM de 0,001), Mg de 0,013% (EPM de 0,001%) e Cl de 0,062% (EPM de 0,002%). Os minerais Ca e K foram os que tiveram em maior concentração no leite de búfala. Os valores aqui observados foram inferiores aos relatados por Albonico et al. (1967-68 apud Zava, 2011, p.373) que verificaram no leite de búfala da raça Mediterrâneo níveis de Ca de 0,203%; K de 0,139%; Na de 0,075%; Mg de 0,020%; Cl de 0,065%.

Patiño et al. (2005) ao determinarem a composição mineral do leite de búfalas da raça Murrah, mediterrâneo e mestiças na Argentina observaram os seguintes teores: Ca de 0,216% ($\pm 0,032$), K de 0,101% ($\pm 0,019$), Na de 0,030% ($\pm 0,005$) e Mg de 0,014% ($\pm 0,003$). Já Medhammar et al. (2012) em revisão de literatura sobre a composição do leite de várias espécies animais observaram os níveis de minerais no leite de búfala de Ca de 0,191%, K de 0,112%, Na de 0,047%, Mg de 0,012% e Cl de 0,057%, nos dois casos estes valores foram acima dos encontrados aqui, exceto o Na e o Cl que foram inferiores e o Mg que se mostrou semelhante. Valores superiores foram relatados por Verruma e Salgado (1994) que

verificaram no leite utilizado para a elaboração dos derivados do leite de búfala os níveis de Ca de 1,88%, K de 0,9% e Mg de 0,09%. Assim, há ampla variação nos níveis dos minerais no leite de búfala, relacionados a dieta e ao metabolismo mineral dos animais.

7.4 Conclusão

A produção acumulada e a produção diária de leite de búfala são maiores nos primeiros 90 dias de lactação (representando 40% da produção total da lactação), declinando em seguida. No período de 91 a 180 dias da lactação a produção acumulada e diária, assim como no período de 271 a 365 dias a produção acumulada são maiores nas búfalas paridas no 2º semestre do ano.

Búfalas paridas no 2º semestre do ano apresentam produção de leite média diária ao longo da lactação superior às paridas no 1º semestre.

A curva de lactação de búfalas pode ser dividida em quatro fases distintas com valores médios de produção em relação ao mês anterior de +4,8% até o 2º.mes (Fase1- Aumento), -4,8% do 2º. ao 4º. Mês (Fase 2- Leve declínio), 12,1% do 4º. ao 8º. mês (Fase 3- Médio declínio) e de 21,7% do 8º. ao 11º. mês (Fase 4- forte declínio).

Os teores de gordura, proteína, ST e ESD aumentam e o de lactose diminui no leite de búfalas com a evolução da lactação, enquanto que a CCS não se altera e são independentes da época de parição (primeiro e segundo semestre do ano).

Búfalas paridas no segundo semestre do ano apresentam aumento da acidez titulável a partir de 90 dias até o final da lactação.

Não há alteração no teor de minerais no leite de búfalas ao longo da lactação, com exceção da diminuição dos teores médios de cloro.

O estudo da curva de lactação das búfalas é um forte instrumento auxiliar no melhoramento genético e práticas de manejo e comerciais do sistema de produção de leite de búfala.

Referências

AHMAD, S.; GAUCHER, I.; ROUSSEAU, F.; BEAUCHER, E.; PIOT, M.; GRONGET, J.F.; GAUCHERON, F. Effects of acidification on physico-chemical characteristics of buffalo milk: A comparison with cow's milk. **Food Chemistry**, Barking, v. 106, n.1, p.11-17, 2008.

AKBAR, M.A.; KUMARI, R.; SINGH, N. Effect of feeding by pass protein with and without biopromoters on milk production, and certain rumen and blood metabolites in lactating Murrah buffaloes. **Indian Journal of Animal Science**, New Delhi, v.69, n.11, p.967-971, 1999.

AMARAL, F.R.; ESCRIVÃO, S.C. Aspectos Relacionados à Búfala Leiteira. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v.29, n.2, p.11-117, 2005.

ANDRADE, K.V.; RANGEL, A.H.N.; ARAÚJO, V.M.; LIMA JÚNIOR, D.M.; OLIVEIRA, N.A. Efeito da estação do ano na qualidade do leite de búfalas. **Rev. Verde Agroecol. Desenvol. Susten.**, v. 6, n.3, p.33-37, 2011.

ARAÚJO, K B.S.; RANGEL, A.H.N.; FONSECA, F.C.E.; AGUIAR, E.M.; SIMPLICÍO, A.A.; NOVAES, L.P., LIMA JÚNIOR, D.M. Influence of the year and calving season on production, composition and mozzarella cheese yield of water buffalo in the State of Rio Grande Do Norte, Brazil. **Italian Journal of Animal Science**, v.11-16, n.1, p.87-91, 2012.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis**. 18th.ed. Gaithersburg, 2005 revision, 2007. Chap. 4, p.8.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE BÚFALOS (ABCB). Disponível em: <http://www.bufalo.com.br/abcb.html>. Acesso em: 12 abr. 2011.

BASTIANETTO, E.; ESCRIVÃO, S.C.; OLIVEIRA D., A.A. Influência das características reprodutivas da búfala na produção, composição e qualidade do leite. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.29, p.49-52, 2005.

BERNARDES, O. Bubalinocultura no Brasil: situação e importância econômica. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.31, n.3, p.293-298, jul. /set., 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Dispõe sobre os métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. **Diário Oficial da União**, Brasília, 14 dez. 2006, Seção 1, p. 8.

CASTILHO, G.; MACCIOTTA, N.P.P.; CARRETTA, A.; CAPPIO-BORLINO, A. Effects of age and calving season on lactation curves of milk production traits in Italian Water buffaloes. **Journal Dairy Science**, v.85, p.1298-1306, 2002.

CAMPANILE, G.; BERNARDES, O.; BASTIANETTO, E.; BARUSELLI, P.S.; ZICARELLI, L.; VECCHIO, D. Manejo de Búfalas Leiteiras. **Buffalo Tec**. Associação Brasileira de Criadores de Búfalos. 2007. 74p.

CAVA-MONTESINOS, P.; CERVERA, M.L.; PASTOR, A. e de la; GUARDIA, M. Room temperature acid sonication ICP-MS multielemental analysis of milk. **Analytica Chimica Acta**, v.531, p.111-123, 2005.

CERÓN-MUÑOZ M.; TONHATI H.; DUARTE J.; MUÑOZ-BERROCAL M.; JURADO-GÁMEZ H. Factors affecting somatic cell counts and their relations with milk and milk constituent yield in buffaloes. **Journal of Dairy Science**. v.85, p.2885-2889, 2002.

CIIAGRO. **Portal Agrometeorológico e Hidrológico do Estado de São Paulo**. Disponível em: <http://www.ciiagro.org.br/diario/cperiodo>. Acesso em: 16 mar. 2015.

COMPÊNDIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL. In: **Métodos Analíticos**. ANFAR, SINDIRAÇÕES, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, Colégio Brasileiro de Nutrição Animal. São Paulo, p.11, 1998.

DEMÉ, M.C.F.; LIMA, C.T.S.; MARCONDES, C.R.; RIBEIRO, M.E.R.; GARNER, A.D.V.; SANTOS, C.S. Produção e Qualidade de bubalinos no Rio Grande do Sul: dados preliminares. **Documento 296**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA-Clima temperado), Pelotas, 2011.

DUBEY, O.C.; SUMAN, C.L.; SANYAL, M.K.; PANDEY, H.S.; SAXENA, M.M.; YADAV, P.L. Factors affecting composition of milk of buffaloes. **Indian Journal of Animal Science**, New Delhi, v.67, n.9, p. 802-804, 1997.

FARIA M.H.; TONHATI H.; CERÓN-MUÑOZ M.; DUARTE J.M.C.; VASCONCELOS B.F. Características físico-químicas do leite de búfalas ao longo da lactação. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Santa Terezinha, v. 57, n.324, p.3-7, 2002.

FERNANDO, R.S.; RINDSIG, R.B.; SPAHR, S.L. Electrical conductivity of milk for detection of mastite. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 65, p.659-664, 1982.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **FAOSTAT**. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/home/index.html#DOWNLOAD>>. Acesso em: 10. jun., 2012.

JORGE, A.M.; ANDRIGHETTO, C.; STRAZZA, M.R.B.; CORREA, R.C.; KASBURGO, G.; PICCININ, A.; VICTÓRIA, C.; DOMINGUES, P.F. Correlação entre o California Mastitis Test (CMT) e a Contagem de Células Somáticas (CCS) do Leite de Búfalas Murrah. **R. Bras. Zootec.**, Viçosa, v.34, n.6, p.2039-2045, 2005.

HAN, B-Z.; MENG, Y.; LI, M.; YANG, Y-X.; REN, F-Z.; ZENG, Q-K.; NOUT, M.JR. A survey on the microbiological and chemical composition of buffalo milk in China. **Food Control**, Vurrey, v.18, p. 742-746, 2007.

HUSSAIN, I.; BELL, A. E.; GRANDISON, A. S. Mozzarella-Type Curd Made from Buffalo, Cows' and Ultrafiltered Cows' Milk. 1. Rheology and Microstructure. **Food and Bioprocess Technology**, 11 de abr., 2012. Disponível em: <<http://rd.springer.com/article/10.1007/s11947-012-0837-2#page-1>>. Acesso em: 21 ago. 2012.

LAMONTAGNA C.; FRANZOLIM R. Níveis de proteína não degradável na dieta sobre a qualidade do leite de búfalas em pastagem. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.**, v. 10, p.322-332, 2009.

KEARL, L.C. **Nutrient requirements of ruminant in development countries**. Logan: Utah State University, 1982.

KHAN, S.; QURESHI, M. S.; AHMED, I.; SHAH, S. M. Milk composition and yield changes with advancing pregnancy in dairy buff aloes (*Bubalus bubalis*). **J. Vet. Anim. Sci.**, v. 35, n. 6, p. 375-380, 2011.

KRUG, F.J. **Métodos de preparo de amostras; fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar**. Editado por Francisco José Krug, 1 ed. Piracicaba, 2010, 340 f.

MACEDO, M.P.; WECHSLER, F.S.; RAMOS, A. de A.; AMARAL, J.B. do; SOUZA, J.C. de; RESENDE, F.D. de; OLIVEIRA, J.V. de. Composição Físico-Química e Produção do Leite de Búfalas da Raça Mediterrâneo no Oeste do Estado de São Paulo. **Rev. Bras. Zootec.**, Viçosa, v. 30, n. 3, p.1084-1088, 2001.

MEDEIROS, E.S.; BARBOSA, S.B.P.; JATOBA, R.B.; AZEVEDO, S.S.; JUNIOR, J.W.P.; SAUKAS, T.N.; ALBUQUERQUE, P.P.; MOTA, R.A. Perfil da contagem de células somáticas na infecção intramamária em búfalas na Região Nordeste do Brasil. **Pesquisa Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v.31, n.3, p. 219-223, mar., 2011.

MEDHAMMAR, E.; WIJESINHA-BETTONI, R.; STADLMAYR, B.; NILSSON, E, CHARRONDIERE, U.R.; BURLINGAME. Composition of milk from minor dairy animals and buffalo breeds: a biodiversity perspective. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 92, p. 445-474, 2012.

NADER FILHO, A.; AMARAL, L.A.; TONHATI, H.; PENHA, L.H.C; TOLEDO, L.M. Variação das características físico-químicas do leite de búfala, durante os diferentes meses do período de lactação. **ARS Veterinária**, v.12, p148-153, 1996.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrients requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washington, D.C. National Academy of Sciences, 2001.

PALOMINO, P.A.H.; SANGAMA, E.D. Elaboración de queso mozzarella a partir de leche de *bubalus bubalis* (Ganado Bupalino). **Revista Amazónica de Investigación Alimentaria**, Iquitos, v. 2, n. 2, p. 19-30, 2002.

PATÍÑO, E.M. Factores que afectan las propiedades físicas y la composición química de la leche de búfalas (*Bubalus bubalis*) en Corrientes, Argentina. **Revista Vet.**, Buenos Aires, v.15, n.1, p.21-25, 2004.

PATÍÑO, E.M.; PATÍÑO, E.M.; FAISAL, E.L.; CEDRES, J.F.; MENDEZ, F.I.; GUANZIROLI STEFANI, C. Contenido mineral de leche de búfalas (*Bubalus bubalis*) en Corrientes, Argentina. **Rev. Vet.**, Buenos Aires, v.16, n.1, p. 40-42, 2005.

RANGEL, A.H.N.; OLIVEIRA, J.P.F.; ARAÚJO, V.M.; BEZERRA, K.C.; MEDEIROS, H.R.; LIMA JUNIOR, D.M.; ARAÚJO, C.G.F. **Influência do estágio de lactação sobre a composição do leite de búfalas**. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.5, n.3, p.306-310, 2011.

RUEGG P.L. Investigation of mastitis problems on farms – Review. **Vet. Clin. N. Am.: Food Anim. Pract.**, v.19, p.47-63, 2003.

SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. **Estratégias para o controle da mastite e melhoria da qualidade do leite**. Barueri: Manole, 2007.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Agricultura e Abastecimento. **Resolução SAA nº 24 de 01 de agosto, 1994**. Dispõe sobre as normas técnicas de produção e classificação dos produtos de origem animal e as relativas às atividades de fiscalização e inspeção dos produtos de origem animal. Cap.7, Artigo 134, 1994. Disponível em:

<<http://www.cda.sp.gov.br/www/legislacoes/popup.php?action=view&idleg=33>>. Acesso em: 13 ago. 2012.

SILVA, D.J. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. Viçosa: UFV, 1990.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análises de alimentos: Métodos químicos e biológicos**, ed. 3, UFV, Viçosa, 2002.

TEIXEIRA, L.V.; BASTIANETTO, E.; OLIVEIRA, D.A.A. Leite de búfala na indústria de produtos lácteos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v.29, n.2, p.96-100, 2005.

TRIPALDI, C.; PALOCCI, G.; MIARELLI, M.; CATTI, M.; ORLANDINI, S.; AMATISTE, S.; DI BERNARDINI, R.; CATILLO, G. Effects of Mastitis on Buffalo Milk Quality. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Gwanak-gu, v.23, n.10, p.1319-1324, 2010.

TONHATI, H.; MUÑOZ, M.F.C.; OLIVEIRA, J.A.; DUARTE, J.M.C.; FURTADO, T.P.; TSEIMAZIDES, S.P. Parâmetros Genéticos para a Produção de Leite, Gordura e Proteína em Bubalinos. **Rev. Bras. Zootec.**, Viçosa, v.29, n.6, p.2051-2056, 2000.

VERRUMA, M.R.; SALGADO, J.M. Avaliação Nutricional do leite de búfala em comparação ao leite de vaca. **Sci. Agric.**, Piracicaba, v.50, n.3 p.444-450, 1994.

ZAVA, M. **El búfalo doméstico**. Buenos Aires: Orientacion, 2011, p.303-399.

CAPÍTULO 8 : Caracterização da curva de lactação em função da duração e número da lactação e da faixa etária de búfalas recebendo dieta catiônica com baixo balanço cátion-aniônico dietético (BCAD)

CAPÍTULO 8 CARACTERIZAÇÃO DA CURVA DE LACTAÇÃO EM FUNÇÃO DA DURAÇÃO E NÚMERO DA LACTAÇÃO E DA FAIXA ETÁRIA DE BÚFALAS RECEBENDO DIETAS CATIÔNICAS COM BAIXO BALANÇO CÁTION-ANIÔNICO DIETÉTICO (BCAD)

8.1 Introdução

As características da curva de lactação de bubalinos em diversos sistemas de alimentação e manejo nutricional envolvendo os diversos fatores que afetam a produção e composição do leite é fundamental para obter melhor eficiência produtiva e econômica na exploração leiteira. A produção e composição do leite de vacas variam em função da genética, estágio de lactação (DUBEY et al., 1997), período do ano (BASTIANETTO et al., 2005), raça, nutrição, número de ordenhas, manejo, entre outros (AKBAR et al., 1999), mas poucos trabalhos científicos sobre esses efeitos têm sido desenvolvidos com a espécie bubalina.

O estágio da lactação é um dos fatores que parecem influenciar mais em búfalas do que em vacas na produção e composição do leite, principalmente no teor dos sólidos totais (proteína e gordura) que aumenta à medida que se avança o período de lactação (NADER FILHO et al., 1996; FARIA et al., 2002; CERÓN-MUÑOZ et al., 2002; CAMPANILE et al., 2007). A curva de lactação das búfalas inicia-se com produção crescente de leite atingindo um pico em seis semanas com posterior declínio e secagem dos animais (CASTILHO et al., 2002). Entretanto, os efeitos que afetam determinando as características como esse declínio se processa ainda necessitam ser esclarecidos.

Desta forma, o presente experimento teve por objetivo caracterizar a produção de leite durante toda a lactação avaliando os efeitos da duração, número da lactação e da faixa etária de búfalas recebendo dietas catiônicas com baixo balanço cátion-aniônico dietético (BCAD).

8.2 Material e Métodos

O experimento foi realizado no período de 2012 e 2013 compreendendo 365 dias em propriedade rural comercial de búfalos situada na região central do Estado de São Paulo, Brasil, com temperatura média de 21,93°C (máxima de 28,81°C e mínima de 15,05°C) e precipitação acumulada de 2.302,06 mm (CIIAGRO, 2015). Foram utilizadas 206 búfalas em lactação, mestiças da raça Murrah e Mediterrâneo, com histórico de produção de leite média

de 8 kg/animal/dia, peso médio de 650 kg e ingestão de Matéria Seca (MS) de 2,4% do peso vivo.

As búfalas foram mantidas em pastejo rotacionado de *Brachiaria brizantha*, água *ad libitum* e após as ordenhas recebiam suplementação alimentar composta de *Brachiaria brizantha* (21,66%), cana picada (*Saccharum officinarum*) (36,62%), resíduo de cervejaria (26,26%), NaCl (0,88%) e ração comercial (14,58%) (constituída de farelo de milho e algodão, Refinazil®, uréia, calcário e minerais). As dietas atendiam as exigências nutricionais para búfalas em lactação (KEARL, 1982; NRC, 2001; CAMPANILE et al., 2007) e foram amostradas conforme Rodrigues (2010), já para as forragens foi utilizado o método do pastejo simulado (com coleta de dez amostras de locais diferentes).

O BCAD foi calculado pela equação $(Na+K)-(Cl+S)/mEq/kg$ de MS (BLOCK, 1994) e os níveis de Na, K, Ca, S e Mg foram determinados nos ingredientes pelo método de preparação de amostra por digestão nítrico/peróxido (KRUG, 2010) e leitura por espectrômetro de emissão (ICP OES-da Baird, modelo ICP 2000, USA e visão radial, com fonte de radio frequência de 40 MHz) e o Cl por titulação (AOAC, 2007) realizadas no Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL). A dieta utilizada para todos os animais apresentou BCAD de +83 mEq/kg/MS.

No Laboratório de Metabolismo Ruminal e Bromatologia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA-USP) foram realizadas as análises bromatológicas dos ingredientes determinando em duplicata a MS, extrato etéreo (EE) por Soxhlet, matéria mineral (MM) por incineração simples (SILVA; QUEIROZ, 2002), proteína bruta (PB) pelo método de micro-Kjeldahl (COMPÊNDIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 1998), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) pelo método ANKOM e as soluções por Van Soest (1965) descritas por Silva (1990) e os nutrientes digestíveis totais (NDT) pela fórmula: %proteína bruta digestível (PBD) + % fibra em detergente neutro verdadeiramente digestível (FDN_{vD}) + % carboidrato não fibroso digestível (CNFD) + $2,25 * \% \text{ extrato etéreo digestível (EED)}$ (NRC, 2001).

A curva de lactação foi dividida em quatro períodos (≤ 90 , 91 a 180, 181 a 270 e 271 a 365 dias de lactação) para avaliação da produção acumulada nesses períodos e as médias de produção diária que foi medida individualmente 3 vezes a cada 30 dias.

Para análise estatística dos dados obtidos, as búfalas foram classificadas de acordo com a duração da lactação (≤ 240 , 241 a 270, 271 a 300 e 301 a 365 dias), número da lactação (1ª a 3ª, 4ª a 6ª e ≥ 7 ª lactação) e faixa etária (3 a 6, 7 a 10 e ≥ 11 anos) (Tabela 8.1). Os dados

foram submetidos à análise da variância a 5% de significância pelo PROC MIXED (medidas repetidas ao longo do tempo) considerando-se os fatores acima descritos; no desdobramento da análise foi utilizado o teste de Tukey a 5% de probabilidade (Statistical Analysis System, SAS 9.3).

Tabela 8.1 – Critérios de classificação com número de búfalas (duração da lactação, número da lactação e faixa etária das búfalas)

Critério de classificação		Grupos formados			
1-Duração da lactação (dias)	≤ 240	241 a 270	271 a 300	301 a 365	
Número de animais	35	58	58	55	
2-Número da lactação avaliada	1 ^a a 3 ^a	4 ^a a 6 ^a	$\geq 7^a$	-	
Número de animais	100	56	50	-	
3-Faixa etária das búfalas (anos)	3 a 6	7 a 10	≥ 11	-	
Número de animais	117	49	40	-	

8.3 Resultados e Discussão

Na Tabela 8.2 estão os resultados das búfalas com relação a produção acumulada e diária nos períodos ≤ 90 , 91 a 180, 181 a 270 e 271 a 365 dias de lactação, e também as produções acumuladas, ou seja, a produção da lactação e a produção diária média da lactação em função da duração da lactação dividida em ≤ 240 dias, 241 a 270 dias, 271 a 300 dias e 301 a 365 dias.

Independente da duração da lactação (≤ 240 dias, 241 a 270 dias, 271 a 300 dias e 301 a 365 dias) houve diferenças entre os quatro períodos avaliados da lactação, tanto para a produção acumulada quanto para a produção diária média do leite de búfala. O período ≤ 90 dias da lactação possui média superior aos demais. Em todos os períodos, à medida que a lactação avançou as produções foram diminuindo de forma gradual, indicando uma curva de lactação, com produção elevada nos primeiros 90 dias de lactação e posterior decréscimo (Tabela 8.2).

Estes resultados vão ao encontro com Dubey et al.(1997) que ressaltaram a importância e interferência do estágio da lactação na produção de leite em vacas. Nader Filho et al. (1996), Faria et al. (2002), Cerón-Muñoz et al. (2002) e Campanile et al. (2007) afirmaram que o estágio da lactação influencia muito na produção de leite de búfalas.

As médias da produção acumulada das búfalas para o período de ≤ 90 , 91 a 180 e 181 a 270 dias de lactação para a duração da lactação ≤ 240 (dados na Tabela 8.2) foram respectivamente: 1.035, 898 e 337 litros/animal e produção diária média de 11,5, 10,0 e 6,1 litros/animal/dia, com produção total da lactação de 2.270 litros/animal e média diária de 9,2

litros/animal/dia. Para a duração da lactação de 241 a 270 dias, foram respectivamente: 1.110, 963 e 567 litros/animal, e produção diária média de 12,3, 10,5 e 6,2 litros/animal/dia e total da lactação de 2.640 litros/animal com média geral diária de 9,7 litros/animal/dia.

Tabela 8.2 – Produção acumulada e diária média do leite das búfalas nos períodos ≤ 90 , 91 a 180, 181 a 270 e 271 a 365 dias de lactação em função da duração da lactação (≤ 240 dias, 241 a 270 dias, 271 a 300 dias e 301 a 365 dias)

Períodos da lactação (dias)	Duração da lactação (dias)							
	≤240		241 a 270		271 a 300		301 a 365	
	Produção acumulada (Litros/animal)							
	Prod.	EPM	Prod.	EPM	Prod.	EPM	Prod.	EPM
≤90	1.035 ^{a/x}	26,38	1.110 ^{a/x}	20,43	1.100 ^{a/x}	20,78	1.108 ^{a/x}	20,78
91 a 180	898 ^{b/y}	20,86	963 ^{b/x}	16,16	979 ^{b/x}	16,44	1032 ^{b/w}	16,44
181 a 270	337 ^{c/y}	20,00	567 ^{c/x}	15,06	703 ^{c/w}	15,32	719 ^{c/w}	15,32
271 a 365	-	-	-	-	112 ^{d/x}	9,88	362 ^{d/w}	9,88
Total	2.270	52,18	2.640	30,09	2.894	32,16	3.221	32,16
	Produção diária (Litros/animal/dia)							
≤90	11,5 ^{a/x}	0,29	12,3 ^{a/w}	0,23	12,2 ^{a/wx}	0,23	12,3 ^{a/w}	0,23
91 a 180	10,0 ^{b/y}	0,22	10,5 ^{b/xy}	0,17	10,6 ^{b/x}	0,18	11,2 ^{b/w}	0,18
181 a 270	6,1 ^{c/x}	0,22	6,2 ^{c/x}	0,17	7,6 ^{c/w}	0,17	7,8 ^{c/w}	0,17
271 a 365	-	-	-	-	3,7 ^{d/x}	0,15	5,0 ^{d/w}	0,15
Total	9,2	0,14	9,7	0,11	8,6	0,09	9,1	0,09

Prod. = Produção; EPM = Erro padrão da média.

Médias com letras minúsculas (a, b, c e d) diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Médias com letras minúsculas (w, x, y e z) diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Comparando dentro do período < 90 dias de lactação, não houve diferença na produção acumulada entre as durações da lactação das búfalas, ou seja, a produção acumulada até os 90 dias de lactação independe da duração da lactação. Ainda no período de lactação < 90 referente à produção diária média de leite de búfala, as durações da lactação de 241 a 270, 271 a 300 e 301 a 365 dias foram iguais, entretanto a média da duração ≤ 241 a 270 foi semelhante a 301 a 365 dias (Tabela 8.2).

No período da lactação de 91 a 181 dias a maior produção acumulada foi nas búfalas com duração de lactação de 301 a 365 dias, (média= 1.032 litros/animal). Para as durações de 241 a 270 e 271 a 300 dias de lactação as médias foram semelhantes, de 963 e 979 litros/animal, respectivamente, mas diferentes da duração de ≤ 240 dias (média= 898 litros/animal). Neste mesmo período a produção diária média de leite de búfala foi igual nas durações de lactação de 241 a 270 e 271 a 300 dias, com os respectivos valores de 10,5 e 10,6 litros/animal/dia e se diferenciaram da duração de 301 a 365 dias, média de 11,2 litros/animal/dia, porém a média da duração da lactação referente ao mês 241 a 270 dias não se diferenciou da duração ≤ 240 dias com média de 10 litros/animal/dia (Tabela 8.2).

Com relação ao período de 181 a 270 dias de lactação do rebanho total de búfalas não houve diferenças nos valores médios entre as durações 271 a 300 e 301 a 365 dias, com respectivas médias de produção acumulada de 703 e 719 litros/animal, as quais forma diferentes da duração ≤ 240 e 241 a 270 dias, com médias de 337 e 567, respectivamente, que também diferenciaram entre si. Já a produção diária média deste período foi igual nas durações 271 a 300 e 301 a 365 dias, com médias de 7,6 e 7,8 litros/animal/dia, que por sua vez diferenciaram da media da lactação ≤ 240 e 241 a 270 dias (médias de 6,1 e 6,2 litros/animal/dia). No período de 271 a 365 dias da lactação houve diferença entre as durações de lactação de 271 a 300 e 301 a 365 dias, no que se refere à produção acumulada e diária média de leite de búfala, sendo que as maiores médias foram na duração 301 a 365 dias, com produção acumulada de 362 litros/animal e produção diária média de 5,0 litros/animal/dia (Tabela 8.2).

Não houve diferença na produção diária de leite de búfala no 1º, 2º, 4º, 5º e 9º mês em função da duração da lactação, mas sim nos meses 3, 6, 7, 8 e 10. No 3º e 6º mês as durações ≤ 240 , 241 a 270 e 271 a 300 dias foram iguais e com médias inferiores a duração de 301 a 365 dias, que obteve média de 13,0 litros/animal/dia (Tabela 8.3).

Tabela 8.3 – Produção média diária de leite de búfalas ao longo da lactação (mensal) em função da duração da lactação

Meses	Duração da lactação (dias)			
	≤ 240	241 a 270	271 a 300	301 a 365
	litros/animal/dia			
1	11,0 ^{AB/a}	11,8 ^{A/a}	11,4 ^{BC/a}	11,3 ^{BCD/a}
2	11,9 ^{A/a}	12,6 ^{A/a}	12,8 ^{A/a}	12,7 ^{AB/a}
3	11,6 ^{A/b}	12,6 ^{A/b}	12,6 ^{A/b}	13,0 ^{A/a}
4	11,3 ^{Aa}	12,0 ^{A/a}	12,1 ^{AB/a}	12,1 ^{BC/a}
5	9,9 ^{B/a}	10,4 ^{B/a}	10,5 ^{C/a}	11,2 ^{D/a}
6	8,6 ^{C/b}	9,1 ^{C/b}	9,3 ^{D/b}	10,3 ^{E/a}
7	7,0 ^{D/b}	8,0 ^{D/b}	8,9 ^{D/a}	8,6 ^{F/a}
8	5,4 ^{E/c}	6,8 ^{E/b}	7,6 ^{E/b}	8,0 ^{F/a}
9	-	3,9 ^{F/b}	6,5 ^{F/a}	6,9 ^{G/a}
10	-	-	3,7 ^{G/b}	6,0 ^{H/a}
11	-	-	-	4,3 ^I
12	-	-	-	4,2 ^I
Média	7,9	8,1	8,1	8,7
Media Geral		8,2		
EPM		0,14		

EPM = Erro padrão da média.

Médias com letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Medias com letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

No geral, a produção de leite em todas as durações se inicia elevada ocorrendo um aumento da produção no segundo mês em números absolutos. Entretanto, para algumas durações ainda há aumento de produção, como ocorreu com as búfalas de 271 a 300 dias de lactação ou se mantém como ≤ 240 , 241 a 270 e 301 a 365 dias de lactação. No 3º mês a produção se mantém independente da duração da lactação, sendo que no mês 2 e 3 ocorre o pico da lactação. No 4º mês inicia a queda de produção em números absolutos para todas as durações, entretanto apenas na duração 301 a 365 dias ocorreu efeito com queda da produção diária. A partir do 5º mês para todas as durações de lactação começa a queda da produção progressiva, demonstrando que independente da duração da lactação, a curva de lactação em búfalas se mostra semelhante.

Houve diferenças nas produções acumuladas e diária médias de leite das búfalas nos quatro períodos da lactação entre o número da lactação (1ª a 3ª, 4ª a 6ª e ≥ 7 ª lactação). Assim como ocorreu para a duração da lactação, a maior produção ocorreu no período inicial ≤ 90 dias, diminuindo-se com o decorrer da lactação (Tabela 8.4).

Tabela 8.4 – Produção acumulada e diária média do leite das búfalas nos períodos ≤ 90 , 91 a 180, 181 a 270 e 271 a 365 dias de lactação em função do número da lactação (1ª a 3ª, 4ª a 6ª e ≥ 7 ª lactação)

Períodos da lactação (dias)	Número da lactação					
	1ª a 3ª lactação		4º a 6º lactação		≥7º lactação	
	Produção acumulada (L/animal)					
	Produção	EPM	Produção	EPM	Produção	EPM
≤90	1.052 ^{a/x}	18,74	1.168 ^{a/w}	25,75	1.236 ^{a/w}	31,97
91 a 180	968 ^{b/x}	16,41	1.053 ^{b/w}	22,28	996 ^{b/wx}	27,11
181 a 270	622 ^{c/w}	18,66	677 ^{c/w}	24,93	668 ^{c/w}	29,67
271 a 365	239 ^{d/w}	20,79	215 ^{d/w}	27,07	200 ^{d/w}	31,29
Total	2.881	63,52	3.113	85,77	3.100	103,76
Produção diária (L/animal/dia)						
≤90	11,5 ^{a/x}	0,20	12,8 ^{a/w}	0,27	13,7 ^{a/w}	0,34
91 a 180	10,4 ^{b/x}	0,17	11,3 ^{b/w}	0,23	10,7 ^{b/wx}	0,28
181 a 270	7,0 ^{c/x}	0,18	7,6 ^{c/w}	0,24	7,2 ^{c/wx}	0,29
271 a 365	4,4 ^{d/w}	0,20	3,8 ^{d/w}	0,27	4,1 ^{d/w}	0,31
Total	8,3	0,16	8,9	0,22	8,9	0,26

EPM = Erro padrão da média.

Médias com letras minúsculas (a, b, c e d) diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Médias com letras minúsculas (w, x e y) diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

No período da lactação de 181 a 270 dias para a produção acumulada e 271 a 365 dias para as produções acumulada e diária de leite de búfala não foi verificada diferença entre o número da lactação. Mas, para o período da lactação ≤ 90 e 91 a 180 dias as produções acumulada e diária de leite de búfala da 4ª a 6ª e ≥ 7 ª lactação foram iguais,

diferindo-se da 1ª a 3ª lactação que obteve a menor média. No período da lactação de 181 a 270 dias para a produção diária média de leite de búfala não houve diferença entre as búfalas com número de lactação da 4ª a 6ª e ≥ 7 ª lactação, porém a ≥ 7 ª lactação foi semelhante a 1ª a 3ª lactação e este por sua vez diferiu do 4ª a 6ª lactação (Tabela 8.4).

Na Tabela 8.5 estão apresentados os dados das produções de leite mensais em função do número da lactação e da idade das búfalas. Somente no 1º, 2º e 3º mês houve diferença entre o número da lactação. No 1º mês ocorreu diferença entre o número da lactação, em que a ≥ 7 ª lactação obteve maior média, seguida da 4ª a 6ª lactação e por último 1ª a 3ª, mostrando que búfalas com maior número de lactações tem maior produção de leite diária do que búfalas com menor número de lactações. No 2º e 3º mês também a búfalas com maior número de lactações ≥ 7 ª lactação e 4ª a 6ª lactação alcançaram média superior em detrimento 1ª a 3ª lactação.

A curva de lactação foi semelhante entre as búfalas de diferentes idades. Entretanto, no 1º, 2º e 3º mês as búfalas mais velhas de 7 a 10 e ≥ 11 anos apresentaram maiores médias diárias que búfalas jovens de 3 a 6 anos. No 4º e 5º mês as búfalas de faixa etária intermediária (de 7 a 10 anos) apresentaram maior produção média diária (Tabela 8.5).

Tabela 8.5 – Produção média diária mensal de leite das búfalas com diferentes números de lactação e em diferentes idades

	Número de lactações			Idade da búfala (anos)		
	1 a 3	4 a 6	≥ 7	3 a 6	7 a 10	≥ 11
1	10,6 ^{B/c}	11,7 ^{BC/b}	13,1 ^{A/a}	10,4 ^{B/b}	12,3 ^{B/a}	12,2 ^{BC/a}
2	11,7 ^{A/b}	13,2 ^{A/a}	13,8 ^{A/a}	11,7 ^{A/b}	13,1 ^{A/a}	13,3 ^{A/a}
3	11,7 ^{A/b}	13,2 ^{A/a}	13,8 ^{A/a}	11,8 ^{A/b}	13,2 ^{A/a}	13,0 ^{AB/a}
4	11,6 ^{A/a}	12,6 ^{B/a}	12,0 ^{B/a}	11,6 ^{A/b}	12,6 ^{AB/a}	11,8 ^{C/ab}
5	10,2 ^{B/a}	11,6 ^{C/a}	10,1 ^{C/a}	10,2 ^{B/b}	11,3 ^{C/a}	10,3 ^{D/ab}
6	9,0 ^{C/a}	10,1 ^{D/a}	9,7 ^{C/a}	9,0 ^{C/a}	9,9 ^{D/a}	9,4 ^{D/a}
7	8,0 ^{D/a}	8,6 ^{E/a}	8,0 ^{D/a}	8,2 ^{D/a}	8,2 ^{E/a}	8,1 ^{E/a}
8	6,7 ^{E/a}	7,6 ^{F/a}	7,5 ^{D/a}	6,7 ^{E/a}	7,3 ^{F/a}	7,4 ^{E/a}
9	5,4 ^{F/a}	5,9 ^{G/a}	5,7 ^{E/a}	5,4 ^{F/a}	5,5 ^{G/a}	5,9 ^{F/a}
10	4,4 ^{G/a}	3,8 ^{H/a}	4,5 ^{F/a}	4,5 ^{G/a}	3,6 ^{H/a}	4,9 ^{G/a}
11	3,3 ^{G/a}	3,9 ^{H/a}	2,6 ^{G/a}	3,5 ^{G/a}	3,4 ^{H/a}	3,1 ^{H/a}
12	3,8 ^{G/a}	1,7 ^{Ia}	3,2 ^{EF/G/a}	3,9 ^{G/a}	1,5 ^{Ib}	2,0 ^{H/ab}
Média	8,0	8,6	8,7	8,1	8,5	8,4

Médias com letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si ($p < 0,05$)

Medias com letras minúsculas diferentes na mesma linha dentro da mesma variável diferem entre si ($p < 0,05$).

As curvas de produção de leite foram semelhantes entre ambos os grupos, demonstrando que búfalas teriam idade média à primeira cria aos 3 anos. A curva geral da lactação em búfala observada com aumento inicial até atingir o pico da lactação e o declínio

posterior mensal pode ser caracterizada como dividida em quatro etapas: Fase (1) (aumento) fase de aumento de produção até o 3º mês da lactação em relação ao mês anterior em que houve aumentos médios de 5,93%, 5,02% e 3,03% nas três faixas de lactação com búfalas de uma a três lactações e idade de 3 a 6 anos, com 4 a 6 lactações com 7 a 10 anos de idade e acima de 7º. lactações com mais de 11 anos de idade, respectivamente. Fase (2) (leve declínio) durante o 4º. mês de lactação com declínios mensais de 1,27%, 4,55% e 11,14%, respectivamente. Fase (3) (médio declínio) do 5º. ao 8º. mês da lactação com quedas mensais de 12,78%, 12,28% e 10,94%, respectivamente e Fase (4) (forte declínio) do 9º. ao 11º. mês com declínios mensais médios de 20,20%, 20,01% e 26,87%, respectivamente. Diante desses dados, podemos observar que as búfalas mais velhas, com maior número de lactação mostraram características de maior declínio que as demais categorias ao longo da lactação, embora a produção total da lactação fosse ligeiramente superior, mas sem diferença significativa entre as demais produções de leite.

No início da lactação até o 3º. mês, as búfalas com maior número de lactação produzem mais do que as búfalas com menor número de lactações, mas a partir do 4º mês a produção se mantém igual para ambos os grupos de búfalas.

Interessantes resultados obtidos foram as produções acumulada e diária do leite das búfalas em relação a faixa etária em que búfalas mais velhas acima de 11 anos de idade produziram 7,8% a mais de leite na lactação total e 7,2% a mais na produção diária que as búfalas mais novas com 3 a 6 anos de idade, embora não foi possível detectar diferenças significativas. Isso sinaliza a pouca seleção genética em bubalinos com ampla possibilidade de aumento de produção em animais mais jovens com aumento do melhoramento genético, como verificado em vacas de leite (Tabela 8.6).

No período da lactação de 181 a 270 dias para as produções acumulada e diária de leite de búfala não houve diferenças entre as faixas etárias das búfalas. Porém, no período da lactação ≤ 90 dias a média da produção acumulada e diária de leite do grupo com faixa etária de 7 a 10 e ≥ 11 anos foram semelhantes e superiores a ao grupo de 3 a 6 anos, indicando que até os 90 primeiros dias de lactação a produção de leite das búfalas mais velhas é superior que as mais novas, fato também observado com o número da lactação.

Já no período da lactação de 91 a 180 dias tanto para a produção acumulada quanto para a produção diária média os grupos com idade de 7 a 10 e ≥ 11 anos tiveram médias semelhantes e acima do grupo de 3 a 6 anos. No período da lactação de 271 a 365 dias a produção acumulada e a diária média de leite foram superiores nas búfalas com faixa

etária de 3 a 6 anos, mostrando que na fase final da lactação a produção é maior nas búfalas mais jovens do que nas mais velhas.

Tabela 8.6 – Produções acumulada e diária média do leite das búfalas nos períodos ≤ 90 , 91 a 180, 181 a 270 e 271 a 365 dias de lactação em função da faixa etária (3 a 6, 7 a 10 e ≥ 11 anos)

Períodos da lactação (dias)	Faixa etária das búfalas					
	3 a 6 anos		7 a 10 anos		≥11 anos	
	Produção acumulada (L/animal)					
	Produção	EPM	Produção	EPM	Produção	EPM
≤90	1.045 ^{a/x}	19,59	1.179 ^{a/w}	25,36	1.202 ^{a/w}	29,96
91 a 180	966 ^{b/x}	16,98	1.053 ^{b/w}	21,95	991 ^{b/wx}	25,22
181 a 270	631 ^{c/w}	19,41	636 ^{c/w}	24,97	688 ^{c/w}	27,89
271 a 365	245 ^{d/w}	21,28	169 ^{d/x}	27,29	231 ^{d/wx}	29,18
Total	2.887	66,14	3.037	85,37	3.112	97,36
Produção diária (L/animal/dia)						
≤90	11,4 ^{a/x}	0,21	12,9 ^{a/w}	0,27	13,3 ^{a/w}	0,32
91 a 180	10,4 ^{b/x}	0,18	11,3 ^{b/w}	0,23	10,7 ^{b/wx}	0,26
181 a 270	7,1 ^{c/w}	0,19	7,3 ^{c/w}	0,24	7,4 ^{c/w}	0,27
271 a 365	4,4 ^{d/w}	0,20	3,3 ^{d/x}	0,26	4,4 ^{d/w}	0,28
Total	8,3	0,16	8,7	0,21	8,9	0,24

EPM = Erro padrão da média.

Médias com letras minúsculas (a, b, c e d) diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Médias com letras minúsculas (w, x e y) diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

8.4 Conclusão

A curva de lactação em búfalas caracteriza-se por aumento na produção de leite até os 90 dias declinando em seguida, distinguindo-se quatro fases com diferentes níveis de queda mensal de produção em relação ao mês anterior. Búfalas mais velhas acima de 11 anos de idade apresentam declínio mais acentuado que búfalas mais jovens.

Independente da duração da lactação, número da lactação e faixa etária das búfalas a curva da lactação é semelhante, com produção ascendente de leite inicial, com pico no 2º e 3º mês e queda progressiva a partir do 4º e 5º mês. Porém, no início da lactação até 90 dias de lactação búfalas com maior número de lactações e faixa etária produzem maior quantidade de leite que búfalas mais novas.

Referências

AKBAR, M.A.; KUMARI, R.; SINGH, N. Effect of feeding by pass protein with and without biopromoters on milk production, and certain rumen and blood metabolites in lactating

Murrah buffaloes. **Indian Journal of Animal Science**, New Delhi, v.69, n.11, p.967-971, 1999.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis**. 18th.ed. Gaithersburg, 2005 revision, 2007. Chap. 4, p.8.

BASTIANETTO, E.; ESCRIVÃO, S.C.; OLIVEIRA D.,A.A. Influência das características reprodutivas da búfala na produção, composição e qualidade do leite. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.29, p.49-52, 2005.

BLOCK, E. Manipulating dietary anions and cations for prepartum dairy cows to reduce incidence of milk fever. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.67, n.12, p.2939-2948, 1984.

CAMPANILE G.; BERNARDES O.; BASTIANETTO E.; BARUSELLI P.S.; ZICARELLI L.; VECCHIO D. Manejo de Búfalas Leiteiras. **Buffalo Tec**. Associação Brasileira de Criadores de Búfalos. 2007. 74p.

CASTILHO, G.; MACCIOTTA, N.P.P.; CARRETTA, A.; CAPPIO-BORLINO, A. Effects of age and calving season on lactation curves of milk production traits in Italian Water buffaloes. **Journal Dairy Science**, v.85, p.1298-1306, 2002.

CERÓN-MUÑOZ M.; TONHATI H.; DUARTE J.; MUÑOZ-BERROCAL M.; JURADO-GÁMEZ H. Factors affecting somatic cell counts and their relations with milk and milk constituent yield in buffaloes. **Journal of Dairy Science**. v. 85, p.2885-2889, 2002.

CIIAGRO. **Portal Agrometeorológico e Hidrológico do Estado de São Paulo**. Disponível em: <http://www.ciiagro.org.br/diario/cperiodo>. Acesso em: 16 mar. 2015.

COMPÊNDIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL. **In: Métodos Analíticos**. ANFAR, SINDIRAÇÕES, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, Colégio Brasileiro de Nutrição Animal. São Paulo, p.11, 1998.

DUBEY, O.C.; SUMAN, C.L.; SANYAL, M.K.; PANDEY, H.S.; SAXENA, M.M.; YADAV, P.L. Factors affecting composition of milk of buffaloes. **Indian Journal of Animal Science**, New Delhi, v.67, n.9, p. 802-804, 1997.

FARIA M.H.; TONHATI H.; CERÓN-MUÑOZ M.; DUARTE J.M.C.; VASCONCELOS B.F. Características físico-químicas do leite de búfalas ao longo da lactação. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Santa Terezinha, v.57, n.324, p.3-7, 2002.

KEARL, L.C. **Nutrient requirements of ruminant in development countries**. Logan: Utah State University, 1982.

KRUG, F.J. **Métodos de preparo de amostras; fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar**. Editado por Francisco José Krug, 1 ed. Piracicaba, 2010, 340 f.

NADER FILHO, A.; AMARAL, L.A.; TONHATI, H.; PENHA, L.H.C; TOLEDO, L.M. Variação das características físico-químicas do leite de búfala, durante os diferentes meses do período de lactação. **ARS Veterinária**, v.12, p148-153, 1996.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrients requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washington, D.C. National Academy of Sciences, 2001.

RODRIGUES, R.C. **Métodos de Análises Bromatológicas de Alimentos: Métodos Físicos, Químicos e Bromatológicos – Documentos 306**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Clima temperado, Pelotas, Rio Grande do Sul, 2010.

SILVA, D.J. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. Viçosa: UFV, 1990.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análises de alimentos: Métodos químicos e biológicos**, ed. 3, UFV, Viçosa, 2002.

CAPÍTULO 9 : Avaliação *in vitro* de rações com níveis crescentes de balanço cátion-aniônico dietético (BCAD) positivo na produção de gases, metano e cinética da degradabilidade com inóculo de conteúdo ruminal de bubalinos

CAPÍTULO 9 AVALIAÇÃO *IN VITRO* DE RAÇÕES COM NÍVEIS CRESCENTES DE BALANÇO CÁTION-ANIÔNICO DIETÉTICO (BCAD) POSITIVO NA PRODUÇÃO DE GASES, METANO E CINÉTICA DA DEGRADABILIDADE COM INÓCULO DE CONTEÚDO RUMINAL DE BUBALINOS

9.1 Introdução

A diferença entre cátions e ânions de uma dieta, denominada de balanço cátion-aniônico dietético (BCAD), é determinada usando os cátions ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$) e os ânions ($\text{Cl}^- + \text{S}^{2-}$) que são os minerais mais atuantes no equilíbrio ácido-base animal (BLOCK, 1994). O BCAD é uma técnica que tem sido empregada visando melhorar a eficiência da dieta para a produção de leite (SHAHZAD; SARWAR; NISA, 2008; GANJKHANLOU; NIKKHAH; ZALI, 2010; CORREA et al, 2014) e de carne em ruminantes (DEL CLARO et al., 2005; SHAHZAD; SARWAR; NISA, 2007).

Dietas com maior proporção de cátions são chamadas catiônicas, positivas, ou alcalinogênicas, favorecem a produção e qualidade do leite (BLOCK, 1994; SHAHZAD; SARWAR; NISA, 2008; GANJKHANLOU; NIKKHAH; ZALI, 2010), enquanto que dietas com maior proporção de ânions, chamadas de aniônicas ou negativas ou acidogênicas têm sido recomendadas para vacas no período pré-parto (WU et al, 2008; SHAHZAD et al., 2011).

Poucos trabalhos têm sido realizados sobre os efeitos do BCAD na fermentação ruminal, especialmente com búfalos. Alguns deles indicam que o BCAD não interfere na fermentação ruminal, a não ser no pH (TUCKER; HARRISON; HEMKEN, 1988; VAGNONI; OETZEL, 1998; DEL CLARO et al. 2005). Entretanto, Sharif et al. (2010) observaram melhora no metabolismo ruminal e cinética da degradação.

Objetivou-se neste experimento avaliar os efeitos de três dietas catiônicas, com níveis crescentes de BCAD na cinética de fermentação ruminal, através dos parâmetros da produção de gases totais e metano, degradabilidade da matéria seca e orgânica, a produção de ácidos graxos de cadeia curta e nitrogênio amoniacal em 24 e 96 horas de incubação usando inóculo de conteúdo ruminal de bubalinos, com o uso de técnica de produção de gases *in vitro*.

9.2 Material e Métodos

Os ensaios foram conduzidos em dezembro de 2012 no Laboratório de Metabolismo Ruminal (LabRúmen) e as análises nos Laboratórios de Bromatologia e

Fermentabilidade Ruminal da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA/USP) e no Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL).

Três rações catiônicas foram formuladas a partir de uma ração basal constituída de 54% de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, 25% de silagem de milho e 21% de concentrado, contendo 65,94% de fubá de milho, 27,5% de farelo de soja, 1% ureia, 1,7% calcário, 0,5% fosfato bicálcico e 3,36% sal mineral (24,4% de cálcio, 8% de enxofre, 2% de magnésio). Os tratamentos foram então ajustados para diferentes BCAD com fontes de minerais, constituindo o tratamento T110 contendo +110 mEq/kg de MS e T220 com +220 mEq/kg de MS adicionando-se, respectivamente, 70 e 35g de sulfato de magnésio (MgSO_4); 78,7 e 35g de sulfato de amônio ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$); 87,5 e 31,5 g de cloreto de cálcio (CaCl_2) e 59,5 e 35 g de cloreto de magnésio (Cl_2Mg), bem como o tratamento T440 contendo +440 mEq/kg de MS em que foram adicionados 196 g de bicarbonato de sódio (NaHCO_3). O BCAD foi estimado pela equação: $(\text{Na}^+ + \text{K}^+) - (\text{Cl}^- + \text{S}^-)$ (BLOCK, 1984). Os teores de Na, K e S nos ingredientes da ração foram analisados pelo método de preparação de amostra por digestão nítrico/peróxido (KRUG, 2010) e leitura por espectrômetro de emissão (ICP OES-da Baird, modelo ICP 2000, USA e visão radial, com fonte de radio frequência de 40 MHz), já o Cl pelo método de titulação (AOAC, 2007). Análises bromatológicas foram realizadas conforme técnicas citadas por Silva e Queiroz (2002) e a estimativa do NDT conforme NRC (2001) (Tabela 9.1).

Tabela 9.1 – Composição bromatológica dos ingredientes da ração basal e estimativas dos nutrientes digestíveis totais (NDT)

Componentes da dieta base	Nutrientes com base na MS (%)					
	MS	PB	EE	MM	FDN	NDT
<i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu	22,11	8,94	1,20	9,54	68,5	62,2
Silagem de milho	44,2	8,5	1,80	4,10	49,8	69
Concentrado	82,35	20,03	2,53	5,63	21,7	78,5

MS = Matéria seca; PB = Proteína bruta; EE = Extrato etéreo; MM = Matéria mineral; FDN = Fibra em detergente neutro; NDT = Nutrientes digestíveis totais (NRC, 2001).

O experimento seguiu modelo em delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos, três inóculos e três repetições utilizando a técnica de produção de gás *in vitro* descrita por Theodouro et al. (1994) e Mauricio et al. (1999) e adaptada por Bueno et al. (2005). Foram utilizadas 36 frascos de vidro de 160 mL contendo 90 mL de solução tampão e 10 mL de inóculo ruminal incubados em estufa de circulação de ar à 37°C. Os inóculos utilizados foram de conteúdo ruminal (líquido e sólido) de três búfalos castrados, canulados

no rúmen, de quatro anos de idade, peso médio de 750 kg e arraçados com feno de Tifton (*Cynodon* spp.) e concentrado (milho e sorgo). A produção de gases foi medida no interior dos frascos com o uso de “transdutor” e um datalogger (PressDATA 800).

Foram avaliados a cinética de produção de gases (PG); produção de metano (CH_4); a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC); concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH_3); degradabilidade da matéria seca e orgânica *in vitro* (DMS).

As produções de gases foram medidas nos tempos de incubação de 4, 8, 12, 16, 24, 30, 35, 46, 59, 72 e 96 horas e os dados foram ajustados ao modelo matemático de France et al. (1993) para expressar a cinética de fermentação dos tratamentos: $A = A_f [1 - \exp^{-b(t-t_0)-c(V_t - V_{t0})}]$ (onde: A é o volume acumulado de gases produzidos até o tempo t ; A_f é o volume assintótico dos gases produzidos, b e c são constantes do modelo; e t_0 representa um tempo de colonização discreto). A cada medida foi realizado a liberação dos gases do interior dos frascos conforme recomendação de Abdalla et al. (2012), para evitar inibição da fermentação pelos microrganismos ruminais.

A produção de metano foi mesurada em amostras incubadas em 4, 8, 12, 18 e 24 horas coletadas em seringas descartáveis como alíquota de gás (2,5 mL), de cada tratamento e do inóculo, sendo mantida em tubo Vacuntainer[®] (com pressão negativa de 12 mL). A determinação de metano foi feita em cromatografia gasosa (equipamento da marca Shimadzu). Análises de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), em amostras obtidas nos tempos de 24 e 96 horas de incubação foram realizadas também por cromatografia gasosa no mesmo equipamento de acordo com técnica descrita por Erwin et al. (1961) A concentração de nitrogênio amoniacal (em todos os frascos) foi determinada por método colorimétrico (WEATHERBURN, 1967).

Os dados obtidos foram analisados pelo GLM do software estatístico SAS (Statistical Analysis System) 9.3 e submetidos à análise de variância (ANOVA) a 5% de significância.

9.3 Resultados e Discussão

Os parâmetros do modelo descrito por France et al. (1993) e as produções de gases acumulada em 24 e 96 h e de metano das três rações contendo níveis crescentes de BCAD estão apresentadas na Tabela 9.2.

Não houve diferença entre os tratamentos para as variáveis estudadas, concluindo que as rações com BCAD de +110, +220 e +440 mEq/kg/MS não afetaram a eficiência da

fermentação, já que valores de eficiência da fermentação estão relacionados com o $t_{1/2}$, e a produção acumulada de gás *in vitro* em 24 e 96 horas. Os valores médios obtidos foram para a variável A de 302,80 mL. g⁻¹ MS; para b e c, de 0,054 h⁻¹ e -0,205 h^{-1/2}, respectivamente; a L de 3,54; $t_{1/2}$ de 29,91 e a produção acumulada de gás *in vitro* em 24 e 96 horas de 50,74 e 18,44 mL. g⁻¹ MS, respectivamente.

Tabela 9.2 – Cinética da degradabilidade *in vitro* e produções de gases e de metano em rações com diferentes BCAD

Variáveis	Tratamentos			Média (EPM)	Efeito (P)
	T110 (EPM)	T220 (EPM)	T440 (EPM)		
A (mL. g ⁻¹ MS)	306,74 (4,00)	301,71 (4,00)	299,94 (4,00)	302,80 (2,31)	0,50*
b (h ⁻¹)	0,052 (0,005)	0,053 (0,005)	0,057 (0,005)	0,054 (0,003)	0,76*
c (h ^{-1/2})	-0,191 (0,042)	-0,201 (0,042)	-0,225 (0,042)	-0,205 (0,02)	0,85*
L	3,38 (0,76)	3,48 (0,76)	3,78 (0,76)	3,54 (0,44)	0,93*
$t_{1/2}$ (h)	30,23 (0,64)	30,04 (0,64)	29,47 (0,64)	29,91 (0,37)	0,70*
PG 24h (mL. g ⁻¹ MS)	50,89 (2,06)	50,25 (2,06)	51,10 (2,06)	50,74 (1,19)	0,95*
PG 96h (mL. g ⁻¹ MS)	17,51 (1,58)	17,75 (1,58)	20,05 (1,58)	18,44 (0,91)	0,49*
CH ₄ teor (%)	0,81 (0,45)	0,83 (0,45)	0,92 (0,45)	0,85 (0,26)	0,98*
CH ₄ (mL/gMSD)	3,12 (2,09)	3,00 (2,09)	3,95 (2,09)	3,35 (1,21)	0,94*
CH ₄ (mL/gMOD)	3,06 (2,12)	2,84 (2,12)	3,97 (2,12)	3,29 (1,23)	0,92*

T110 = ração com BCAD +110 mEq/kg/MS; T220 = ração com BCAD +220 mEq/kg/MS; T440 = ração com BCAD +440 mEq/kg/MS; A = volume final ou produção potencial de gases; b e c = constantes do modelo; L = tempo de colonização; $t_{1/2}$ = tempo em horas em que a metade de A é atingido; PG 24h = Produção acumulada de gás em 24 horas; PG 96h = Produção acumulada de gás em 96 horas; CH₄ = Metano; MSD = matéria seca degradada; MOD = matéria orgânica degradada; EPM = Erro padrão da média; * = Não significativo (p>0,05).

Na Figura 9.1 têm-se os perfis da fermentação *in vitro* dos três tratamentos T110, T220 e T440, verifica-se que não houve diferenças nas curvas da fermentação entre os tratamentos e nem entre os três inóculos utilizados, demonstrando a semelhança dos inóculos dos búfalos utilizados. Não houve diferença significativa na produção de gás metano entre os tratamentos, com valores médios de 0,85%, 3,35 mL/gMSD e 3,29 mL/gMOD (Tabela 9.2).

As médias dos tratamentos da degradabilidade *in vitro* da matéria seca (DMS) e da matéria orgânica (DMO), que demonstram a quantidade efetiva de substrato realmente utilizada no processo de fermentação *in vitro*, auxiliando na avaliação da produção de gases encontram-se na Tabela 9.3.

Também não houve diferença entre os tratamentos, tanto para a DMS, quanto para a DMO em ambos os tempos de incubação, obtendo-se média geral para a DMS e DMO em 24 e 96 h de 44,48% e 73,30 %, 47,39%, e 73,04%, respectivamente Fauchon, Seoane, e Bernier (1995) não observaram efeitos de níveis crescentes de BCAD de +100 para +700 mEq/kg MS em cordeiros sobre a digestibilidade aparente dos nutrientes, assim como Delaquis e Block (1995) não verificaram efeitos de dietas com diferentes BCAD (de +481,8

e +327,2 mEq/kg de MS) em vacas holandesas, no consumo e digestibilidade da MS, FDA, FDN e nitrogênio.

Entretanto, Sharif et al. (2010) avaliando dietas com quatro níveis de BCAD (-110, +110, +220 e +330 mEq/kg de MS) em búfalos com fistulas ruminais observaram aumentos na degradabilidade ruminal da MS, FDN, taxa de degradação e extensão da digestão em níveis elevados de BCAD. No entanto, o tempo de colonização diminuiu em alto nível de BCAD.

Figura 9.1 – Perfil da cinética de fermentação *in vitro* dos três inóculos em cada tratamento (T110, T220 e T440)

T110 = ração com BCAD +110 mEq/kg/MS; T220 = ração com BCAD +220 mEq/kg/MS; T440 = ração com BCAD +440 mEq/kg/MS;

Tabela 9.3 – Degradabilidade da matéria seca e da matéria original estimados nos tempos 24 e 96 horas após a incubação

Variáveis	Tratamentos			Média (EPM)	Efeito (P)
	T110 (EPM)	T220 (EPM)	T440 (EPM)		
DMS 24 horas (%)	43,57 (2,00)	42,97 (2,00)	46,90 (2,00)	44,48 (0,01)	0,43*
DMS 96 horas (%)	71,98 (2,00)	75,96 (2,00)	71,69 (2,00)	73,30 (0,01)	0,31*
DMO 24 horas (%)	45,60 (0,04)	45,35 (0,04)	51,23 (0,04)	47,39 (0,02)	0,58*
DMO 96 horas (%)	73,48 (0,03)	75,93 (0,03)	69,72 (0,03)	73,04 (0,02)	0,45*

Legenda: T110 = ração com BCAD +110 mEq/kg/MS; T220 = ração com BCAD +220 mEq/kg/MS; T440 = ração com BCAD +440 mEq/kg/MS; DMS = degradabilidade da matéria seca *in vitro*; DMO = Degradabilidade da matéria orgânica *in vitro*; EPM = Erro padrão da média; * = Não significativo (p>0,05).

Não houve diferenças significativas ($p>0,05$) entre os três tratamentos na produção total e individual dos ácidos graxos de cadeia curta e ainda na relação acetato:propionato e nem na produção de nitrogênio amoniacal em ambos os tempos de incubação (Tabela 9.4).

Tabela 9.4 – Produções *in vitro* total e individual de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) em 24 e 96 h de incubação de rações catiônicas com diferentes BCAD

Variáveis	Hora	Tratamentos			Média	Efeito (P)
		T110 (EPM)	T220 (EPM)	T440 (EPM)		
AGCC (mmol/gMSD)	24	7,77 (2,12)	11,09 (2,12)	6,10 (2,12)	8,32 (1,22)	0,31*
	96	9,86 (1,78)	9,87 (1,78)	7,96 (1,78)	9,23 (1,03)	0,69*
C ₂ (% molar)	24	53,82 (1,30)	53,77 (1,30)	49,61 (1,30)	52,40 (0,75)	0,10*
	96	55,08 (2,54)	54,99 (2,54)	54,03 (2,54)	54,70 (1,47)	0,95*
C ₃ (% molar)	24	24,96 (2,86)	25,93 (2,86)	30,51 (2,96)	27,13 (1,65)	0,40*
	96	25,93 (2,46)	26,64 (2,46)	28,32 (2,46)	26,97 (1,42)	0,79*
IC ₄ (% molar)	24	0,00 (0,48)	0,34 (0,34)	0,00 (0,480)	0,17 (0,16)	0,82*
	96	1,00 (0,26)	0,87 (0,26)	0,97 (0,32)	0,94 (0,15)	0,94*
C ₄ (% molar)	24	20,21 (2,63)	18,46 (2,63)	18,97 (2,63)	19,21 (1,52)	0,89*
	96	15,43 (1,02)	14,89 (1,02)	14,85 (1,02)	15,06 (0,59)	0,91*
IC ₅ (% molar)	24	0,30 (0,16)	0,48 (0,16)	0,16 (0,16)	0,31 (0,09)	0,44*
	96	0,78 (0,20)	0,86 (0,20)	0,80 (0,25)	0,81 (0,12)	0,96*
C ₅ (% molar)	24	1,19 (0,12)	1,36 (0,12)	1,24 (0,12)	1,26 (0,07)	0,59*
	96	1,77 (0,12)	1,74 (0,12)	1,72 (0,12)	1,74 (0,07)	0,96*
C ₂ :C ₃	24	2,20 (0,24)	2,13 (0,24)	1,67 (0,24)	2,00 (0,14)	0,29*
	96	2,15 (0,25)	2,09 (0,25)	1,98 (0,25)	2,07 (0,14)	0,89*
N-NH ₃ (mg/dL)	24	6,30 (1,91)	4,21 (1,91)	4,66 (1,91)	5,06 (1,10)	0,73
	96	4,01 (2,79)	4,44 (2,79)	6,60 (2,79)	4,93 (1,32)	0,78

T110 = ração com BCAD +110 mEq/kg/MS; T220 = ração com BCAD +220 mEq/kg/MS; T440 = ração com BCAD +440 mEq/kg/MS; AGCC = ácidos graxos de cadeia curta; C₂ = ácido acético; C₃ = ácido propiônico; IC₄ = ácido isobutírico; C₄ = ácido butírico; IC₅ = ácido isovalérico; C₅ = ácido valérico; C₂:C₃ = relação acetato: propionato; EPM = Erro padrão da média; * = Não significativo ($p>0,05$).

Os dados obtidos com os produtos da fermentação microbiana concordam com os obtidos *in vivo* por Tucker, Harrison e Hemken (1988) com vacas Holandesas lactantes recebendo dietas com níveis de BCAD de -10, 0, +10 e +20 mEq/kg/MS que não identificaram alterações na fermentação ruminal, com exceção da concentração do ácido isovalérico, que foi maior no tratamento com BCAD de +20 mEq/kg/M. De acordo com os autores, os resultados obtidos semelhantes podem ter ocorrido devido a um equilíbrio dietético gerado entre cátions e ânions utilizados na correção do BCAD das dietas como os compostos cloreto de sódio, cloreto de potássio, cloreto de cálcio, bicarbonato de potássio e o bicarbonato de sódio, ao invés da ação de um único íon. Isso também pode ter ocorrido no presente experimento, tendo em vista a similaridade das fontes de minerais utilizadas para a correção do BCAD.

Vagnoni e Oetzel (1998) trabalhando com dietas de BCAD de -40, -51, -63 e +203 (controle) mEq/kg/MS (adicionando sulfato de magnésio, sulfato de cálcio, cloreto de amônia e cloreto de cálcio), com vacas secas, canuladas no rúmen, observaram que as dietas não afetaram a fermentação ruminal, incluindo o nitrogênio amoniacal, mas a produção total de AGCC foi maior com a dieta com BCAD de +203 mEq/kg/MS. Del Claro et al. (2005) também não observaram efeitos de dietas com diferentes BCAD (-160, -40, 140, 250 e 500 mEq/kg de MS) em carneiros, utilizando o sulfato de amônio e o bicarbonato de sódio para correções do BCAD sobre o perfil de produção de ácidos graxos voláteis no rúmen e a digestibilidade aparente, obtendo valores semelhantes aos deste experimento. De forma semelhante, em pesquisa desenvolvida com búfalos *in vivo*, Shahzad, Sarwar e Nisa (2007) avaliaram a influência de dietas com diferentes BCAD (+110, +220 e +330 mEq / kg de MS) no desempenho de animais em crescimento. Foi observado aumento linear na ingestão de nutrientes com aumento do nível BCAD. No entanto, a digestibilidade dos nutrientes permaneceu inalterada em todas as dietas, sendo que os bezerros alimentados com BCAD de +330 mEq / kg de MS tiveram balanço superior de nitrogênio do que aqueles que consumiram a ração BCAD +110 mEq / kg de MS.

Existem outras pesquisas que também relatam resultados um pouco discordantes com o aqui observado como o trabalho de Apper-Bossard e Peyraud (2004) que realizaram experimento com vacas em lactação, canuladas, avaliando dois níveis de concentrado (20% e 40% na MS). Cada grupo foi dividido em dois quadrados latinos 3x3 para testar três BCAD de 0, +150 e +300 mEq/kg de MS sobre o desempenho produtivo, líquido ruminal e equilíbrio ácido-base. Constataram que o consumo de ração e a produção de leite foram aumentados com o aumento BCAD e que o pH ruminal e os ácidos graxos de cadeia curta foram pouco afetados pelos tratamentos, enquanto que o estado ácido-base foi muito afetado, sugerindo que o aumento BCAD melhora o desempenho produtivo dos animais através de mudanças no equilíbrio ácido-base. Já Apper-Bossard et al. (2010) não observaram qualquer efeito de dietas com os mesmos BCAD na produção de ácidos graxos de cadeia curta e a digestibilidade de fibras em vacas de leite fistuladas no rúmen.

Os principais compostos minerais que interferem no metabolismo ruminal são aqueles que podem atuar mais fortemente no pH do rúmen, como o bicarbonato de sódio e os cloretos. Assim, diante dos resultados obtidos, apesar destas fontes de minerais terem sido utilizadas na correção dos níveis de BCAD utilizados não houve evidência de suas ações sobre o metabolismo dos microrganismos do rúmen, ou de forma direta ou indiretamente atuando sobre o ambiente da fermentação. Novas pesquisas com diferentes fontes compostos

minerais e concentrações de BCAD podem vir a elucidar as ausências de efeitos sobre o metabolismo ruminal obtidas neste experimento.

9.4 Conclusões

Rações catiônicas com BCAD de +110, +220 e +440 mEq/kg de MS não interferem na cinética de fermentação *in vitro*, na produção de gases totais e de metano, degradabilidade da matéria seca e orgânica e na produção de ácidos graxos de cadeia curta e nitrogênio amoniacal com uso de inóculo de conteúdo ruminal de bubalinos, indicando possibilidade de ações do BCAD sobre outras características do metabolismo animal.

Referências

- ABDALA, A.L.; LOUVANDINI, H. SALLAM, S.M.A.H. et al. In vitro evaluation, in vivo quantification, and microbial diversity studies of nutritional strategies for reducing enteric methane production. **Tropical Animal Health and Production**, v.44, p.953-964, 2012.
- APPER-BOSSARD, E.; PEYRAUD, J.L. Dietary cation-anion difference could enhance acid-base status of lactating dairy cows submit to a sub acidosis. **J. Anim. Feed Sci.**, v.13, p.27-30, 2004.
- APPER-BOSSARD, E.; FAVERDIN, P.; MESCHY, F.; PEYRAUD, J.L. Effects of dietary cation-anion difference on ruminal metabolism and blood acid-base regulation in dairy cows receiving 2 contrasting levels of concentrate in diets. **Journal of dairy Science**, Champaign, v. 93, n. 9, p. 4196-210, 2010.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis**. 18th.ed. Gaithersburg, 2005 revisão, 2007. Chap. 4, p.8.
- BLOCK, E. Manipulation of dietary cation-anion difference on nutritionally related production diseases, productivity, and metabolic responses of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.7, n.5, p.1437-1450, 1994.
- BUENO, I.C.S.; CABRAL FILHO, S.L.S.; GOBBO, S.P.; LOUVANDINI, H.; VITTI, D.M.S.S.; ABDALLA, A.L. Influence of inoculum source in a gas production method. **Animal Feed Science and Technology**, v.123-124, p. 95-105, 2005.
- CORREA, L.B.; ZANETTI, M.A.; SARAN NETTO, A.; DEL CLARO, G.R.; PAIVA, F.A.; MARTINS, P.G.M.A. Effects of supplemental dietary sodium bicarbonate on performance of lactating Holstein cows during the summer season in Brazil. **Livestock Science**, v.169, p.78-82, 2014.

DELAQUIS, A.M; BLOCK, E. Acid–base status, renal function, water, and macromineral metabolism of dry cows fed diets differing in cation–anion difference. **J. Dairy Sci.**, v.78, p.604-619, 1995.

DEL CLARO, G.R.; ZANETTI, F.A; SARAN NETO, A.; SALLES, M.S.V.; CORREA, L.B. Influência do balanço cátion-aniônico da dieta no rúmen e no desempenho de ovinos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.57, n.5, p.644-651, 2005.

ERWIN , E.S.; MARCO, G.J; EMERY, E.M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. **J. Dairy Sci.** Champaign, v.44, n.9, p.1768-1771, 1961.

FAUCHON, C.; SEOANE, J. R.; BERNIER, J. F. Effects of dietary cation-anion concentrations on performance and acid-base balance in growing lambs. **J. Anim. Sci.**, Champaign, v.75, p.145-151, 1995.

FRANCE, J.; DHANOA, M.S.; THEODOROU, M.K.; LISTER, S.J.; DAVIES, S.J.; ISAC, D. A model to interpret gas accumulation profiles with *in vitro* degradation of ruminant feeds. **Journal of Theoretical Biology**, v.163, p. 99-111, 1993.

GANJKHANLOU, M.; NIKKHAH, A.; ZALI, A. Effect of dietary cation-anion balance on milk production and blood mineral of Holstein cows during the last two months of pregnancy. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v.9, n.36, p.5983-5988, 2010.

KRUG, F.J. **Métodos de preparo de amostras; fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar**. Editado por Francisco José Krug, 1 ed. Piracicaba, 2010, 340 f.

MAURICIO, R.M.; MOULD, F.L.; DHANOA, M.S.; OWEN, E.; CHANNA, K.S.; THEODOROU, M.K. Semi automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. **Animal Feed Science and Technology**, v.79, p.321-330, 1999.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.rev.ed. Washington, D.C.: 2001. 381p.

SHAHZAD, M. A.; SARWAR, M; NISA, M. Nutrient intake, acid base status and growth performance of growing male buffalo calves fed varying level of dietary cation anion difference. **Livestock Science**, v.111, n.1-2, p.136-143, 2007.

SHAHZAD, M.A.; SARWAR, M.; NISA, M. Influence of altering dietary cation anion difference on milk yield and its composition by early lactating *Nili-Ravi* buffaloes in summer. **Livestock Science**, v.113, p.133-143, mar., 2008.

SHAHZAD, M.A.; SHARIF, M.; NISA, M.; SARWAR, M.; FAROOQ, M.; SADDIQI, H.A. Changing certain dietary cation anion minerals: Impact on blood chemistry, milk fever and udder edema in buffaloes during winter. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v.10, n.62, p.13651-13663, 2011.

SHARIF, M.; SHAHZAD, M.A.; NISA, M.; SARWAR, M. Influence of varying levels of dietary cation anion difference on ruminal characteristics, nitrogen metabolism and *in situ* digestion kinetics in buffalo bulls. **Animal Science Journal**, v.81, n.6, p.657-65, 2010.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análises de alimentos: Métodos químicos e biológicos**, ed. 3, UFV, Viçosa, 2002.

THEODOROU, M.K.; WILLIAMS, B.A.; DHANOA, M.S.; MCALLAN, A.B.; FRANCE, J. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. **Anim. Feed Sci. Technol.** v.48, p.185-197, 1994.

TUCKER, W.B.; HARRISON, G.A.; HEMKEN, R.W. Influence of dietary cation-anion balance on milk, blood, urine and rumen fluid in lactating dairy cattle. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v.71, p.346-354, 1988.

VAGNONI, D.B.; OETZEL, G.R. Effects of dietary cation-anion difference on the acid-base status of dry cows. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v. 81. p.1643-1652, 1998.

WU, W.X.; LIU, J.X.; XU, G.Z.; YE, J.A. Calcium homeostasis, acid-base balance, and health status in periparturient Holstein cows fed diets with low cation-anion difference. **Livestock Science**, v.117, p.7-14, 2008.

CAPÍTULO 10 : Caracterização nutricional de dietas utilizadas para búfalas em lactação na região central do Estado de São Paulo

CAPÍTULO 10 CARACTERIZAÇÃO NUTRICIONAL DE DIETAS UTILIZADAS PARA BÚFALAS EM LACTAÇÃO NA REGIÃO CENTRAL DO ESTADO DE SÃO PAULO

10.1 Introdução

As referências sobre o manejo alimentar de búfalos são escassas e, sendo baseadas na maioria das vezes na espécie bovina (JORGE et al., 2011) e em manejos alimentares de búfalos criados em outras partes do mundo como a Índia (maior parte do volumoso são resíduos agroindustriais) e a Itália (alto teor de concentrado e volumoso, como silagem de milho, feno e azevém). Já no Brasil o manejo alimentar das búfalas é quase que exclusivamente de volumoso, com pastagens variadas, podendo ter ou não suplementação com concentrados (BERNARDES, 2010).

Estudos que forneçam informações sobre o manejo alimentar das búfalas em diferentes condições de criações são relevantes para obter dados que possam ser utilizados na formulação de dietas adequadas visando melhora na eficiência nutricional e produtiva da espécie bubalina (SOUZA; FRANZOLIN; SOARES, 2009). Dessa forma, objetivou-se neste artigo desenvolver a caracterização nutricional de dietas utilizadas para búfalas em lactação na região central do Estado de São Paulo, avaliando a composição bromatológica de alimentos e de dietas utilizadas, proporção de volumoso e concentrado, ingestão de matéria seca (IMS) média e produção média de leite das búfalas.

10.2 Material e Métodos

O presente estudo foi realizado de janeiro a novembro de 2013, em quatro propriedades rurais de bubalinocultura leiteira, chamadas de A, B, C e D, localizadas na região central do estado de São Paulo, Brasil, com temperatura média de 21,43°C (máxima de 28,42°C e mínima de 13,69°C) e precipitação acumulada de 1.541,21mm (CHAGRO, 2015). Nestas propriedades, foram coletadas amostras dos alimentos (volumoso e concentrado) de onze dietas, oferecidas a 794 búfalas em lactação, mestiças das raças Murrah, Mediterrâneo e Jafarabadi, com idade de 3 a 25 anos em diferentes períodos de lactação. Os alimentos da dieta foram amostrados conforme Rodrigues (2010).

Foram utilizados 10 volumosos: capim braquiário (*Brachiaria Brizantha* cv. Marandu), capim colômbio (*Panicum maximum* Jacq cv. Colômbio), capim Mombaça

(*Panicum maximum* Jacq cv. Mombaça), capim elefante ou napier (*Pennisetum purpureum*, Schum.), resíduo de cervejaria ou bagaço de cevada, cana-de-açúcar picada, silagem de cana-de-açúcar, silagem de milho e silagem de sorgo de sete alimentos concentrados (rações comerciais) e polpa cítrica.

Das rações concentradas, duas foram fornecidas as búfalas da propriedade A, sendo uma composta de farelo de milho e de algodão, suplemento proteico (Refinazil®), uréia, suplemento mineral (Lactage Gold®) e calcário e outra de farelo de milho e de algodão, suplemento proteico (Refinazil®), uréia, suplemento mineral (Fanton Milk Gold®). Na propriedade B foram utilizadas três rações compostas de: (1) sorgo moído, calcário, fosfato bicálcico, bicarbonato de sódio, suplemento mineral (Lactage®), (2) fubá milho, calcário, fosfato bicálcico, bicarbonato de sódio, suplemento mineral (Lactage®) e (3) milho integral moído, farelo de soja e de gérmen de milho, farelo de glúten de milho 21, farelo de trigo, farelo de arroz desengordurado, melaço, casca de soja moída, calcário calcítico, ureia pecuária, fosfato bicálcico, cloreto de sódio, iodado de cálcio, sulfato de cobre, cobalto, ferro, manganês e zinco, selenito de sódio, vitamina A, D3 e E, BHA, B.H.T e propilgalato. Na propriedade C foi utilizado apenas um tipo de ração composta de fubá milho, calcário, fosfato bicálcico e na propriedade D de farelo de soja, sorgo e milho integral moído, fosfato bicálcico, cloreto de sódio, calcário calcítico, melaço líquido, uréia, enxofre, vitamina A, D e E, selenito de sódio, promotor de crescimento e eficiência alimentar, *Saccharomyces cerevisiae*, aromatizante, antioxidante, sulfatos de ferro de cobre, cobalto, manganês, óxido de zinco e magnésio, iodato de cálcio, proteína de selênio, cobre, cromo e zinco.

Análises bromatológicas de todos os alimentos, compreendendo um total de 43 amostras foram realizadas para Matéria Seca (MS), Extrato Etéreo (EE), por Soxhlet, Matéria Mineral (MM) pela incineração simples (SILVA; QUEIROZ, 2002), Proteína Bruta (PB), através do método de micro-Kjeldahl (COMPÊNDIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 1998). A Fibra em Detergente Neutro (FDN) e Fibra em Detergente Ácido (FDA) foram feitas pelo método ANKOM. Lignina (Lig) e Lignina Ácida (L. ác.), pelo método do ácido sulfúrico a 72% (v/v) (VAN SOEST; WINE, 1968; SILVA; QUEIROZ, 2002).

Os Nutrientes Digestíveis Totais (NDT) foram estimados em porcentagem segundo a fórmula: %Proteína Bruta Digestível (PBD) + % Fibra em Detergente Neutro Verdadeiramente Digestível (FDNvD) + % Carboidrato não Fibroso Digestível (CNFD) + 2,25 * % Extrato Etéreo Digestível (EED) (NRC, 2001).

A proteína bruta digestível total (PBDt) do volumoso foi estimada pela equação: = PB * exp (-1,2 * (Proteína Insolúvel em Detergente Ácido/PB)) e a PBDt do concentrado =

$PB * (1 - (0,4) * (PIDA/PB))$. A PIDA e Proteína Insolúvel em Detergente Neutro (PIDN) foram calculadas pelas respectivas formulas: = Nitrogênio Insolúvel na Fibra em Detergente Ácido (NFDA) * 6,25: = Nitrogênio Insolúvel em Detergente Neutro (NFDN) * 6,25 (NRC, 2001).

Os compostos nitrogenados insolúveis em detergente ácido (NIDA) foram estimados como: $NIDA = \text{Nitrogênio da FDA (N-FDA) \%} * \text{FDA (\% MS)}/100$; os compostos nitrogenados insolúveis em detergente neutro : $NIDN = \text{Nitrogênio da FDN (N-FDN)\%} * \text{FDN (\% MS)}/100$ (NRC, 2001) e $FDN_vD = 0,75 * (FND - \text{lig.}) * (1 - ((\text{lig.}/FDN)^{0,667}))$; (RODRIGUES; VIEIRA, 2011). A Proteína Bruta da NIDA (PB NIDA) foi estimada como $PIDA/6,25$ e a Proteína Bruta da NIDN $PIDN/6,25$ (NRC, 2001; SILVA; QUEIROZ, 2002).

Para o Carboidrato Não Fibroso (CNF) utilizou-se a equação: $= (100 - \%FDN - \%PB - \%EE - \%MM + PIDN)$ (NRC, 2001); para o Carboidrato não Fibroso Digestível (CNFD) corrigido $= 0,98 * CNF * FAP$ (fator de ajuste utilizado = 1); Extrato Etéreo Digestível (EED) = (EE - 1) e a digestibilidade estimada pela equação: $= 100 * PBD/PB$ (NRC, 2001).

Nos alimentos ainda foram estimados o balanço cátion-aniônico, utilizando a equação: $(Na+K)-(Cl+S)/ \text{mEq/kg de MS}$, através da determinação dos níveis de sódio (Na), potássio (K) e enxofre (S), determinando ainda o cálcio (Ca) e magnésio (Mg), pelo método de preparação de amostra por digestão nítrico/peróxido (KRUG, 2010) e leitura por espectrômetro de emissão (ICP OES-da Baird, modelo ICP 2000, USA e visão radial, com fonte de radio frequência de 40 MHz) e o cloro (Cl) pelo método de titulação (AOAC, 2007).

A estimativa da ingestão de matéria das búfalas em cada propriedade foi determinada em lotes de animais conforme o manejo da propriedade a cada mudança da alimentação através das pesagens dos alimentos fornecidos duas vezes ao dia e subtraídos as sobras pesadas no dia seguinte. O valor obtido foi dividido pelo número de animais do lote. Em uma propriedade rural a estimativa de consumo em pastejo foi feito por diferença de altura de entrada e saída de pasto com cálculos da matéria seca ingerida e a amostragem pelo método do pastejo simulado (com coleta de dez amostras de locais diferentes). A produção de leite média foi determinada através de pesagem individual das búfalas uma vez por semana em duas propriedades e mensalmente nas outras duas fazendas.

As análises foram realizadas no Laboratório de Metabolismo Ruminal e Bromatologia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA-USP), e a de minerais no Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL). Os

valores obtidos foram submetidos à análise de estatística descritiva, utilizando o software estatístico SAS (Statistical Analysis System) 9.3.

10.3 Resultados e Discussão

As composições das 11 dietas fornecidas às búfalas em lactação nas quatro propriedades podem ser observadas na Tabela 10.1. O alimento mais utilizado nas dietas foi o resíduo de cervejaria, fornecido em dez dietas, com média de utilização de 26,75% na MS. Isso se deve a localização geográfica das propriedades em região industrial de cervejaria com redução dos custos de transporte e a boa aceitação desse alimento pelas búfalas, além de ser um alimento de boa qualidade nutricional (Tabelas 10.2 e 10.3). Em seguida o concentrado foi utilizado em nove dietas, com média de 15,4% na dieta total com base na MS e depois as forrageiras, presentes em oito dietas, com quatro espécies e diferentes proporções: capim mombaça (39%); capim napier (33,3%); *Brachiaria brizantha* (13,1%); capim colômbio (3,6%).

Tabela 10.1 – Composições das dietas, proporção volumoso e de concentrado, IMS e produção média de leite das búfalas nas propriedades da região central do estado de São Paulo, Brasil em 2013

Itens	Propriedades											MG	DP
	A		B		C			D					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11		
% na dieta da MS													
<i>Brachiaria brizantha</i>	20,0	17,2				3,7	11,6					13,1	7,2
Capim Mombaça			74,3			3,6						39,0	50
Capim Colonião						3,6						3,6	-
Capim Napier						3,6			63,3	34,7	31,4	33,3	24,4
Resíduo de cervejaria	30,5	35,6	13,5	15,4	15,5	71,9		37,9	18,7	14,6	13,3	26,7	18,5
Cana Picada	33,7	31,6					11,2	31,1		33,7		28,3	9,6
Silagem de milho						12,1	64,5	30,1			40,1	36,7	21,9
Sil. de Cana-de-açúcar					59,8							59,8	-
Silagem de Sorgo				71,6								71,6	-
Polpa Cítrica									1,13			1,1	-
Concentrado	15	14,8	12,2	13	24,7		11,8		16,2	16,2	14,6	15,4	3,8
Sal Mineral Comercial									0,73	0,75	0,68	0,7	0,0
NaCl	0,8	0,8				1,5	0,9	0,9				1,0	0,3
Volumoso (%)	85	85,2	87,8	87,0	75,3	100	88,2	100	80,8	83,8	85,4	87,1	7,3
Concentrado (%)	15	14,8	12,2	13	24,7	0,0	11,8	0,0	19,2	16,2	14,6	12,9	7,3
IMS an./dia (kg)	18,8	20,0	21,3	22,7	20,0	17,0	16,7	16,5	14,4	13,4	14,8	17,8	3,0
IMS/P.V (%)	2,7*	2,8*	3,0*	3,2*	2,8*	2,4*	2,4*	2,4*	2,4**	2,2**	2,5**	2,6	0,3
IMS g/P kg ^{0,75}	93	99	106	113	99	84	83	82	83	78	86	91	11,4
P.M.L/an./dia (kg)	10,8	8,9	12,3	10,45	8,1	9,4	8,4	7,8	5,1	4,5	3,0	8,1	2,8

A, B, C e D = São propriedades rurais em Bubalinocultura leiteira localizadas na região central do estado de São Paulo, Brasil; D1...D11 = Diferentes dietas verificadas nas propriedades rurais de Bubalinocultura leiteira; * = Calculado com base no peso médio das búfalas de 700 kg; ** = Calculado com base no peso médio das búfalas de 600 kg; IMS an./dia (kg) =

Ingestão de Matéria Seca por animal por dia em kg; IMS/P.V = Ingestão de Matéria Seca em relação ao Peso Vivo; IMS g/kg^{0,75} = Ingestão de Matéria Seca por g/kg de peso metabólico; MG = média geral; DP = Desvio padrão; P.M.L = Produção média de leite por animal/dia.

Tabela 10.2 – Composição química-bromatológica (% na MS) de capins, resíduo de cervejaria e cana-de-açúcar utilizados em dietas para búfalas em lactação criadas na região central do Estado de São Paulo

Nutriente	Brachiaria		Mombaça		Colonião		Napier		Res. cerveja		Cana	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
MS (%)	33,16	4,89	28,05	1,62	24,37	-	22,59	6,69	24,00	3,14	27,1	0,76
MM	6,17	0,42	9,41	0,90	7,78	-	11,38	2,75	4,90	1,61	1,64	0,13
PB	6,48	0,42	10,16	1,02	8,50	-	8,09	5,67	23,79	1,73	2,67	0,15
EE	1,31	0,08	1,49	0,07	1,30	-	2,46	0,76	6,78	2,02	0,39	0,01
FDN	69,40	4,23	68,83	0,12	70,21	-	69,83	6,22	66,38	7,34	53,4	1,15
FDA	39,74	2,91	43,61	0,01	40,56	-	44,51	2,94	26,97	2,59	33,36	0,57
Lig	4,79	1,52	5,72	0,06	5,06	-	6,26	1,07	7,38	1,42	5,02	0,15
Lig ac	4,89	0,7	6,34	0,05	5,59	-	5,72	1,87	7,65	1,00	5,25	0,15
NIDA	1,27	0,25	2,91	0,40	2,94	-	1,81	1,24	5,84	0,93	0,56	0,01
PIDN	2,63	0,38	4,63	0,35	5,88	-	3,66	2,34	9,19	2,82	1,48	0,20
PBNIDA	0,20	0,04	0,47	0,06	0,47	-	0,29	0,2	0,93	0,15	0,09	0,0
PBNIDN	0,42	0,06	0,74	0,06	0,94	-	0,59	0,37	1,47	0,45	0,24	0,03
PBD	5,12	0,44	7,21	0,63	5,61	-	6,19	4,36	17,74	2,20	2,08	0,14
EED	0,31	0,08	0,49	0,07	0,30	-	1,46	0,76	5,78	2,02	-0,61	0,01
FDNvd	38,31	1,5	34,14	0,24	35,42	-	36,51	2,87	27,47	3,00	27,42	0,7
CNF	19,27	4,13	14,74	2,23	18,09	-	11,9	0,91	7,35	2,69	43,37	0,88
CNFD	18,89	4,04	14,44	2,18	17,72	-	11,66	0,89	7,2	2,63	42,51	0,87
Dig. PB	79,05	3,69	70,99	0,9	66,05	-	76,27	0,48	74,39	4,54	77,66	0,92
NDT	63,00	2,5	56,89	1,15	59,44	-	57,64	0,66	65,41	6,14	70,63	0,37
NFDA	0,20	0,04	0,47	0,06	0,47	-	0,29	0,20	0,93	0,15	0,09	0,0
NFDN	0,42	0,06	0,74	0,06	0,94	-	0,59	0,37	1,47	0,45	0,24	0,03
BCAD	300	47	594	200	518	-	542	214	-133	12	55	17

PB NIDN = Proteína Bruta no Nitrogênio Insolúvel em Detergente Neutro; PBD = Proteína Bruta Digestível; EED = Extrato Etéreo digestível; FDNvd = Fibra em Detergente Neutro Verdadeiramente Digestível; CNF = Carboidrato Não-Fibroso; CNFD = Carboidratos Não-Fibrosos Digestíveis; Dig. PB = Digestibilidade da Proteína Bruta; NDT = Nutrientes Digestíveis Totais; NFDA = Nitrogênio da Fibra em Detergente Ácido; NFDN = Nitrogênio da Fibra em Detergente Neutro; BCAD = Balanço Cátion-Aniônico Dietético em mEq/kg/MS; DP = Desvio Padrão.

A cana-de-açúcar picada fez parte de cinco dietas, com média de 28,3% na dieta total na MS, enquanto que o NaCl participou em apenas cinco dietas com cerca de 1% da MS total. Em três dietas de uma mesma propriedade, os minerais foram adicionados ao concentrado (Tabela 10.1).

A silagem de milho serviu como alimento em quatro das onze dietas, com participação de 36,7% na dieta total. Os alimentos menos utilizados foram: silagem de cana-

de-açúcar, silagem de sorgo e polpa cítrica compondo de 59,8%, 71,6% e 1,1% da dieta na MS, respectivamente.

Avaliando as proporções entre volumoso e concentrado nas dietas, duas das onze dietas utilizaram somente volumoso (Tabela 10.1). As outras foram compostas em média de 87,1% de volumoso e 12,9% de concentrado.

A proporção de volumoso:concentrado foi muito superior em todas as dietas corroborando informações de Bernardes (2010) sobre o manejo alimentar de búfalos no Brasil. O uso de pastagem torna o sistema de produção mais viável economicamente devido aos altos custos de concentrados no mercado. Entretanto, há necessidade de manejo adequado das pastagens visando explorar o máximo de eficiência tendo em vista se tratar de alimentos de qualidade nutricional inferior aos concentrados (Tabela 10.2). Mesmo assim, os búfalos têm demonstrado apresentar boa adaptação aos alimentos volumosos em diversas condições climáticas (KEARL, 1982).

Tabela 10.3 – Composição química-bromatológica (% na MS) de silagens, polpa cítrica e concentrados utilizados em dietas para búfalas em lactação criadas na região central do Estado de São Paulo

Nutriente	Sil. milho		Sil. Cana		Sil. Sorgo		Polpa		Concentrado	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
MS (%)	34,28	2,41	34,95	4,17	40,25	-	20,09	-	83,4	3,57
MM	4,41	0,56	3,44	0,61	3,23	-	0,73	-	9,91	3,34
PB	7,67	1,11	2,73	0,14	5,31	-	6,63	-	24,42	4,86
EE	1,84	0,12	0,8	0,13	1,34	-	3,13	-	2,71	0,82
FDN	50,88	3,49	61,17	4,96	60,97	-	65,98	-	21,98	9,71
FDA	26,55	1,75	38,42	1,13	36,58	-	53,48	-	8,18	1,50
Lig	3,88	0,72	6,05	0,19	4,67	-	2,82	-	1,32	0,96
Lig ac	4,40	0,29	4,71	0,14	6,44	-	2,93	-	2,34	0,73
NIDA	1,31	0,22	0,72	0,03	1,94	-	1,13	-	2,93	2,01
PIDN	1,63	0,76	1,33	0,27	1,31	-	1,63	-	2,79	0,79
PBNIDA	0,21	0,03	0,12	0,01	0,31	-	0,18	-	0,47	0,32
PBNIDN	0,26	0,12	0,21	0,04	0,21	-	0,26	-	0,45	0,13
PBD	6,26	1,29	1,99	0,16	3,42	-	5,41	-	23,25	4,35
EED	0,84	0,12	-0,21	0,13	0,34	-	2,13	-	1,71	0,82
FDNvd	26,92	2,47	33,77	3,04	30,87	-	40,2	-	9,85	7,10
CNF	36,82	4,65	33,19	5,31	30,46	-	25,16	-	43,77	10,3
CNFD	33,92	4,29	32,52	5,21	29,85	-	24,65	-	42,89	10,1
Dig. PB	81,03	5,53	72,86	2,16	64,52	-	81,58	-	95,5	2,94
NDT	68,99	0,79	67,83	2,28	64,91	-	75,05	-	79,85	3,75
NFDA	0,21	0,03	0,12	0,01	0,31	-	0,18	-	0,47	0,32
NFDN	0,26	0,12	0,21	0,04	0,21	-	0,26	-	0,45	0,13
BCAD	151	24	90	16	120	-	-18	-	66	48

PB NIDN = Proteína Bruta no Nitrogênio Insolúvel em Detergente Neutro; PBD = Proteína Bruta Digestível; EED = Extrato Etéreo digestível; FDNvd = Fibra em Detergente Neutro Verdadeiramente Digestível; CNF =

Carboidrato Não-Fibroso; CNFD = Carboidratos Não-Fibrosos Digestíveis; Dig. PB = Digestibilidade da Proteína Bruta; NDT = Nutrientes Digestíveis Totais; NFDA = Nitrogênio da Fibra em Detergente Ácido; NFDN = Nitrogênio da Fibra em Detergente Neutro; BCAD = Balanço Cátion-Aniônico Dietético em mEq/kg/MS; DP = (Desvio Padrão).

A ingestão de matéria seca pelas búfalas nas diferentes dietas foi em média de 17,8 kg/animal/dia, representando 2,6% do Peso Vivo (P.V) e 91g MS/kg^{0,75} de peso metabólico, com valor mínimo 13,4 kg (2,2% do P.V e 78g MS/kg^{0,75}) e máximo 22,7 kg (3,2% P.V e 113g MS/kg^{0,75}). A produção média diária de leite por búfala foi de 8,1 kg, variando de 3,0 a 12,3 kg de leite/animal/dia, ou seja, para cada kg de leite produzido foi consumido diariamente cerca de 2,2 kg de MS por animal.

Esses valores corroboram aos valores médios observados em pesquisas realizadas com búfalas em lactação em diversos sistemas de alimentação, indicando IMS variando de 14,3 a 22,1 kg/animal/dia (2,2 a 3,4% do P.V). Mudgal e Kurar (1987) observaram IMS de 11,34, 14,57 e 17,22 kg de MS/animal/dia em búfalas Murrah alimentadas com 90, 100 e 130% das normas do NRC (1966) recomendadas para as necessidades em energia, respectivamente.

A IMS nas búfalas pode ser influenciada por vários fatores, entre eles fatores genéticos, características intrínsecas dos alimentos e condições ambientais. Os níveis de energia da dieta é um dos principais fatores responsáveis pelo aumento da IMS, entretanto, quando há excesso de carboidratos de rápida fermentação, degradação ruminal e absorção pode levar a redução ou mesmo supressão do consumo voluntário (MINSON; MILFORD, 1966). O teor de fibra baixo na dieta também aumenta a IMS, já que a energia da dieta consumida é associada ao conteúdo de fibra da dieta, ou seja, quanto menor o teor de fibra, maior a energia da dieta (MINSON; MILFORD, 1966).

Estima-se que, em dietas com teores de FDN entre 45 e 49%, a búfala consome cerca de 91 g de MS/ kg^{0,75} de peso metabólico. O teor de energia do leite produzido pode também aumentar a IMS em 275 g de matéria seca por kg de leite corrigido para energia-ECM produzido pelo animal (ZICARELLI, 2001).

Os valores médios obtidos com as análises químico-bromatológicas dos alimentos utilizados nas dietas (Tabelas 10.2, 10.3 e 10.4) encontram-se próximas aos valores médios descritos em alimentos utilizados para gado de corte zebuíno no Brasil Valadares Filho, Paulino e Magalhães (2006).

Todas as forrageiras apresentaram BCAD positivo variando de +300 mEq/kg/MS da *Brachiaria brizantha* e +594 mEq/kg/MS do capim mombaça, com média de +490

mEq/kg/MS, podendo ser utilizadas para atender o Balanço Cátion-Aniônico Dietético (BCAD) positivo (Tabela 10.4).

Os valores médios obtidos com o resíduo de cervejaria estão próximos aos observados por Pereira et al. (1999) em resíduo de diferentes cervejarias com de médias de PB 27,31%, EE de 10,34%, FDN de 59,41%, FDA 19,25% e lignina 6,58 %.

Tabela 10.4 – Análises dos minerais Potássio, Enxofre, Cálcio, Magnésio, Cloro e Sódio dos alimentos consumidos pelas búfalas nas quatro propriedades particulares da Região Central de São Paulo

	Nº Am.	Análises Bromatológicas											
		K		S		Ca		Mg		Cl		Na	
		Med. (% na MS)	DP	Med. (% na MS)	DP	Med. (% na MS)	DP	Med. (% na MS)	DP	Med. (% na MS)	DP	Med. (% na MS)	DP
<i>B. brizantha</i>	4	1,40	0,11	0,09	0,03	0,26	0,04	0,21	0,04	ND	-	ND	-
Bag. Cevada	10	0,04	0,01	0,23	0,02	0,14	0,02	0,11	0,02	0,16	0,01	0,13	0,17
C. Mombaça	2	2,57	0,76	0,10	0,01	0,34	0,05	0,19	0,07	0,54	0,03	ND	-
Cana Picada	5	0,41	0,05	0,08	0,05	0,16	0,05	0,09	0,02	ND	-	ND	-
Napier	4	2,26	1,02	0,06	0,08	0,30	0,05	0,13	0,03	ND	-	ND	-
Sil. Milho	4	0,76	0,06	0,07	0,02	0,16	0,02	0,12	0,00	ND	-	ND	-
Sil. Cana	2	0,49	0,05	0,06	0,01	0,12	0,02	0,08	0,01	0,15	0,02	ND	-
C. Colônia	1	2,36	-	0,14	-	0,35	-	0,17	-	ND	-	ND	-
Sil. Sorgo	1	0,60	-	0,05	-	0,21	-	0,20	-	0,06	-	ND	-
Polpa Cítrica	1	0,03	-	0,04	-	0,11	-	0,01	-	ND	-	0,01	-
Concentrado	9	0,83	0,17	0,23	0,05	1,23	0,66	0,24	0,04	ND	-	0,23	0,14
Sal M. Comer.	3	0,00	-	0,94	-	16,7	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-
NaCl	5	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	60,7	-	39,3	-

Nº propr. = Número de propriedades que utilizam o alimento na sua dieta em algum período do ano; Nº Am. = Número de amostras coletadas durante o experimento; K = Potássio; S = Enxofre; Ca = Cálcio; Mg = Magnésio; ND = Não detectado com desvio padrão $< 2^{-3}$.

A cana de açúcar (*Saccharum officinarum*) caracteriza-se por apresentar pobre teor de proteína e rica em açúcar e os dados obtidos encontram-se próximos aos observados por Fernandes et al. (2003) com diferentes variedades e idade de cortes. Dentre as silagens, a de milho se destaca com maior valor nutritivo de 7,67% de PB, seguida da de sorgo com 5,31% e a silagem de cana-de-açúcar pobre em PB (2,73%). Costa et al. (2005) trabalhando com validação das equações de NRC (2001) avaliaram a silagem de milho e encontraram teores na matéria seca de PB de 5,6%, NIDN 15%, NIDA de 5,76, EE de 2,9, FDN 53%, FDNcp 51,6%, CNF 34,2%, FDA de 26,5%, lignina 3,9% e NDT de 62,5%.

10.4 Conclusão

Os alimentos mais utilizados em dietas para búfalas em lactação localizadas na região central do Estado de São Paulo foram plantas forrageiras em pastagens de capins (mombaça, napier, *braquiário* e colonião), resíduo de cervejaria, cana-de-açúcar picada e a silagem de milho, mantendo relação volumoso:concentrado média de 87:13.

A ingestão de matéria seca média diária foi de 17,8 kg por animal (2,6% do P.V e 91 g/kg^{0,75}) com produção de leite média de 8,1 kg/animal/dia com conversão alimentar média diária de 2,2 kg de MS por kg de leite produzido /animal.

Referências

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis**. 18th.ed. Gaithersburg, 2005 revision, 2007.

BERNANDES, O. Necessidades Nutricionais de Búfalas Leiteiras. In: Encontro Nacional de Criadores de Búfalos, 2, 2010, Bucaramanga. **Anais...** Bucaramanga, 2010. Disponível em: <http://www.ingai.agr.br/artigos/Nutri%C3%A7%C3%A3oBufalas_2010.pdf>. Acesso em: 17 set. 2014.

CIIAGRO. **Portal Agrometeorológico e Hidrológico do Estado de São Paulo**. Disponível em: <http://www.ciiagro.org.br/diario/cperiodo>. Acesso em: 16 mar. 2015.

COMPÊNDIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL. **In: Métodos Analíticos**. ANFAR, SINDIRAÇÕES, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, Colégio Brasileiro de Nutrição Animal. São Paulo, p.11, 1998.

COSTA, M.A.L.; VALADARES FILHO, S.C.; DINIZ, R. F.; PAULINO, M.F.; CECON, P.R.; Paulino, P.V.R.; CHIZZOTTI, M.L; Paixão, M.L. Validação das equações do NRC (2001) para predição do valor energético de alimentos nas condições brasileiras. **R. Bras. Zootec.**, v.34, n.1, p.280-287, 2005.

FERNANDES, A.M.; QUEIROZ, A.C.; PEREIRA, J.C.; LANA, R.P.; BARBOSA, M.H.P.; FONSECA, D.M.; DETMANN, E.; CABRAL, L.S.; PEREIRA, E.S.; VITTORI, A. Composição Químico-Bromatológica de Variedades de Cana-de-Açúcar (*Saccharum spp L.*) com Diferentes Ciclos de Produção (Precoce e Intermediário) em Três Idades de Corte. **R. Bras. Zootec.**, v.32, n.4, p.977-985, 2003.

JORGE, A.M.; COUTO, A.G.; CRUDELI, G.A.; PATIÑO, E.M. **Produção de Búfalas de Leite**. Botucatu: FEPAF, 2011.

KEARL, L.C. **Nutrient requirements of ruminant in development countries**. Logan: Utah State University, 1982.

KRUG, F.J. **Métodos de preparo de amostras; fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar**. Editado por Francisco José Krug, 1 ed. Piracicaba, 2010, 340 f.

MINSON, D.J.; MILFORD, R. The energy values and nutritive values indices of *Digitaria decumbens*, *Sorghum alnum* and *phaseolus atropurpureus*. Aust. **J. Agric. Res.**, v.17, p.411-424, 1966.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.rev.ed. Washinton, D.C.: 2001. 381p.

PEREIRA, J.C.; GONZÁLEZ, J.; OLIVEIRA R. L.; QUEIROZ, A. C. Cinética de Degradação Ruminal do Bagaço de Cevada Submetido a Diferentes Temperaturas de Secagem. **Rev. Bras. Zootec.**, v.28, n.5, p.1125-1132, 1999.

RODRIGUES, M.T.; VIEIRA, R.A.M. Metodologias aplicadas ao fracionamento de alimentos. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal:FUNEP, Cap. 2. , p.29-56, 2011.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análises de alimentos: Métodos químicos e biológicos**, ed. 3, UFV, Viçosa, 2002.

SOUZA, N. H.; FRANZOLIN, R.; SOARES, W. V. B. Metabolismo mineral em bubalinos com ingestão de diferentes níveis de fósforo. **Revista Brasileira de Zootecnia/Journal of Animal Science**, Viçosa, v.38, n.6, p.1149-1154, 2009.

VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, P.V.R.; VALADARES, R.F.D. et al. Exigências nutricionais de zebuínos no Brasil. II. Proteína. In: VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, P.V.R.; MAGALHÃES, K.A. (Eds.) **Exigências nutricionais de zebuínos e tabelas de composição de alimentos BR-Corte**. 1.ed. Viçosa, MG: UFV, DZO, 2006b. 142p.

VAN SOEST, P.J.; WINE, R.H. Determination of lignin and cellulose in acid detergent fiber with permanganate. **Journal of Association of Official Agricultural Chemistry**, v.5, p.780-785, 1968.

ZICARELLI L. Alimentazione della bufala da latte. In: SIMPÓSIO PAULISTA DE BUBALINOCULTURA, 2.,2001, Pirassununga. **Anais...** Pirassununga: II Simpósio Paulista de Bubalinocultura, 2001, p. 1-61.

CAPÍTULO 11 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O BCAD tende a influenciar a produção de leite em búfalas, no entanto é necessário mais estudos para melhor esclarecimento do funcionamento deste mecanismo, determinando o BCAD que seja capaz de maior produção de leite para cada fase da lactação, bem como pesquisas sobre as fontes de minerais que devem ser utilizadas para alcançar BCAD ideal com menor custo de produção das dietas.

Durante o desenvolvimento deste trabalho, desde 2011 até 2014, foram avaliadas aproximadamente 800 búfalas com mais 7.500 observações de produção de leite, analisando cerca de 4.200 amostras de leite de búfala no que se refere as análises físico-químicas, CCS e minerais, além das análises bromatológicas e de minerais das dietas. Foram realizadas mais de 45 visitas as propriedades de bubalinocultura da região central do estado de São Paulo em distância percorrida de mais de 8000 km. Isso demonstra de certa forma, a credibilidade dos dados reais obtidos em trabalhos de campo em condições de bubalinocultura no Brasil com análises laboratoriais em laboratórios especializados com equipamentos modernos.

Durante este trabalho foi possível estabelecer parceria com os proprietários, o que proporcionou crescimento profissional e pessoal, aprendizado ao trabalhar em grupo e nas mais diversas situações e áreas do conhecimento. Com essa interação foi possível observar que os proprietários enfrentam dificuldades no manejo alimentar e de ordenha, devido a escassez de informação para búfalas leiteiras, o que reforça a necessidade de mais pesquisas científicas e tecnológicas nesta área, visando melhor eficiência do sistema produtivo e progresso da bubalinocultura com produção e qualidade do leite.

Ressalta-se finalmente, a importância fundamental da FAPESP para a execução deste trabalho de tese, haja vista a disponibilidade de recurso financeiro e a cobrança da elaboração do projeto e relatórios científicos, contribuindo para o sucesso obtido.