

Ocitocina exógena e a presença do bezerro sobre a produção e qualidade do leite de vacas mestiças

Exogenous oxytocin and calf presence on performance and milk quality of crossbred cows

Wagner Azis Garcia de ARAÚJO¹; Carlos Guilherme Vasconcelos CARVALHO²; Marcos Inácio MARCONDES¹; Ana Júlia Rezende do SACRAMENTO²; Pedro Veiga Rodrigues PAULINO¹

¹Bolsistas do CNPq. Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil
²Pesquisadores da EPAMIG. CT/ITAC, Pitangui-MG, Brasil

Resumo

Objetivou-se avaliar a produção e qualidade do leite em vacas meio sangue (Holandesa x Zebu) em função da presença do bezerro durante a ordenha e/ou da administração de ocitocina exógena. Foram utilizadas oito vacas meio sangue (holandesa x zebu), múltiparas, distribuídas em dois quadrados latinos (4x4) em esquema fatorial (2x2), com e sem a presença do bezerro durante a ordenha, e com a utilização, ou não, de ocitocina exógena. Foi realizada a contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT/mL) e ainda determinados os teores de lactose, gorduras totais, proteína, sólidos totais e extrato seco desengordurado das amostras. Os animais que foram ordenhados com os bezerros lactentes e os com a utilização de ocitocina exógena via intravenosa apresentaram maior produção diária de leite em kg. Não houve interação entre os efeitos, podendo se utilizar qualquer um dos métodos para a estimulação da contração alveolar. A utilização de ocitocina ou a presença do bezerro não causa interferência na qualidade ou na composição do leite de vacas mestiças. A ordenha na presença do bezerro e a utilização de ocitocina promovem aumento da produção láctea.

Palavras-chave: Hormônio. Qualidade do leite. Retenção láctea. Vacas leiteiras.

Abstract

Milk yield and milk quality were evaluated in ½ holstein/zebu cows, with or without the calf presence or oxytocin injection. It was used eight ½ holstein/zebu cows, multiparous, distributed in two Latin squares (4x4) in factorial scheme (2x2), with or without calf presence, and with or without oxytocin injection. The milk was analyzed for somatic cells count (SCC), total bacterial count (TBC/mL), lactose, total fat, protein, total solids, and no fat dry matter concentration. The animals milked with calves and with oxytocin injection showed a higher milk production. There was no interaction between the effects, and any one of the methods may be used for stimulation of alveolar contraction. The calf presence and oxytocin injection during milking results in higher milk production, but no changes in milk quality and composition of ½ holstein/zebu cows.

Keywords: Dairy cows. Hormone. Milk quality. Milk retention.

Introdução

Em sistemas brasileiros de produção de leite, a amamentação restrita é característica da criação de bovinos de duplo propósito (produção de leite e bezerros de corte para comercialização). Este sistema é caracterizado pelo contato do bezerro com a vaca por um período de tempo restrito antes e após a ordenha^{1,2}. A permanência do bezerro durante a ordenha estimula a produção de ocitocina endógena, o que possibilita maior produção láctea^{3,4}. Entretanto, essa permanência acarreta em aumento de mão de obra e adaptação de equipamentos durante o processo de ordenha, resultando em aumento nos custos de produção⁵.

Outra característica destes sistemas de duplo propósito é a grande quantidade de leite residual após a ordenha⁶. Uma das hipóteses a respeito do acúmulo de leite residual é a deficiência na produção de ocitocina endógena, pouco estimulada durante os procedimentos de ordenha sem a presença de bezerros⁴.

Correspondência para:

Wagner Azis Garcia de Araújo
Rua Itagiba de Oliveira nº 317
CEP: 36880-000, Muriaé-MG
Tel: (32)88249387
e.mail: aziszo@yahoo.com.br

Recebido: 04/03/11

Aprovado: 20/12/12

Um dos problemas resultantes da retenção de leite é o aumento da incidência de infecções intramamárias⁴. O leite retido na glândula não só atua como fator irritativo do tecido epitelial de revestimento interno da glândula, como também um bom substrato para o desenvolvimento de microrganismos⁷.

Uma alternativa prática para a diminuição do leite residual seria o “esgotamento” realizado pelo bezerro após a ordenha. Entretanto, o aleitamento natural de bezerras pode ser um vetor de contaminação, contribuindo para a diminuição na qualidade do leite⁸. Brito, Brito e Verneque⁸, ao realizarem a contagem bacteriana de tetos de vacas antes e após o aleitamento natural, verificaram aumento de dez vezes no número de bactérias presentes na superfície do teto.

Sendo assim, a utilização de ocitocina exógena pode ser uma alternativa para diminuir esta retenção de leite e para aumentar a liberação de leite produzido pelas glândulas mamárias^{9,10}. O uso de ocitocina exógena é efetivo principalmente no que se refere à remoção do leite residual^{11,12} que pode reduzir o substrato disponível para a proliferação de bactérias patogênicas que poderiam causar a mastite.

No entanto, além do aumento de leite, a administração exógena de ocitocina pode causar propriedades responsáveis pela alteração na composição do leite. Kumarasamy e Nitesh¹¹ descreveram alta correlação entre níveis de ocitocina administrada e a diminuição da concentração de proteína no leite, enquanto que os níveis de gordura permaneceram inalterados. Allen⁹ também não verificou influência na concentração de gordura no leite, entretanto, a ocitocina diminuiu o percentual de lactose e proteína no leite. Belo e Bruckmaier¹⁰ não verificaram nenhuma influência da administração de ocitocina exógena sobre os percentuais de lactose, gordura e proteína do leite.

A utilização da ocitocina exógena e ou presença do bezerro durante a ordenha poderia diminuir a presença de leite residual, bem como melhorar parâmetros qualitativos do leite. Assim, avaliou-se a produção e

qualidade do leite em vacas meio sangue (Holandesa x Zebu) em função da presença do bezerro durante a ordenha e/ou da administração de ocitocina exógena.

Material e Método

O experimento foi conduzido em fazenda da zona rural de Pitangui, Minas Gerais, no período de Junho de 2009 a Agosto de 2009. Foram utilizadas oito vacas meio sangue (Holandesa x Zebu), múltíparas, distribuídas em dois quadrados latinos (4x4) em esquema fatorial (2x2), com e sem a presença do bezerro durante a ordenha, e com a administração, ou não, de ocitocina exógena. As coletas de leite ocorreram entre 45 e 115 dias após o parto dos animais. Foram quatro períodos de 14 dias, sendo 7 dias para adaptação e 7 dias de coleta.

Durante o período de coleta, foi realizada a pesagem diária do leite para determinar a produção diária de leite. Foram colhidas amostras diárias do leite de 20 mL em tubos estéreis devidamente identificados, após a lavagem prévia das glândulas com água e sabão, secagem com papel toalha e desinfecção do ostio do teto com álcool etílico a 70° GL. Após condicionamento sob temperatura de refrigeração, as amostras de leite foram transportadas para o laboratório para a determinação da composição do leite e da contagem de células somáticas (CCS). Para a composição do leite, foi utilizado o equipamento Bentley 2000, que realiza as determinações das porcentagens de gordura, proteína, lactose, e sólidos totais do leite, por absorção infravermelha, e ainda o extrato seco desengordurado pela diferença entre as porcentagens de sólidos totais e a gordura¹³. Para a CCS foi utilizado outro aparelho (Somacount 300) por citometria fluxométrica¹⁴.

Os exames microbiológicos foram realizados semeadando-se 0,1 mL de leite em placas contendo 20 mL de ágar sangue bovino a 10% e de ágar Mac Conkey, incubando-se em condições aeróbicas a 37°C, por até 96 horas, com observação do desenvolvimento micro-

biano a cada 24 horas. Após este procedimento foram estimadas a contagem bacteriana total (CBT/mL).

As vacas foram isoladas de seus bezerros e apenas houve a presença do bezerro durante a ordenha para os tratamentos específicos. Nos tratamentos onde houve a presença do bezerro durante a ordenha, foi oferecido um quarto mamário em rodízio (trocando-se o teto oferecido todos os dias) durante um minuto para o bezerro. O bezerro foi pesado antes e após o oferecimento do úbere para a avaliação da quantidade de leite ingerido.

A administração de ocitocina exógena foi feita diariamente 30 segundos antes do início do procedimento de ordenha, por via intravenosa (na veia abdominal externa), onde foram injetadas doses de 1 mL de solução contendo 20 U.I. de ocitocina sintética e veículo qsp. Para os animais que não receberam ocitocina durante o período, era administrado 1 mL de solução salina (0,9% de cloreto de sódio) via intravenosa diariamente antes da ordenha, sob mesma metodologia à da ocitocina. Este procedimento também era utilizado durante o período de adaptação ao tratamento.

A ordenha foi feita às 8:00 horas da manhã, uma vez ao dia, utilizando ordenhadora mecânica. As vacas foram alimentadas com cana-de-açúcar e capim elefante (*Pennisetum purpureum*, Schumach cv. cameron)

picados, milho moído, farelo de soja, ureia, sulfato de amônio e suplemento mineral. Estes alimentos foram oferecidos *ad libitum* na proporção descrita na tabela 1, segundo as exigências nutricionais preconizadas pelo NRC¹⁵ para vacas em lactação.

Os resultados foram analisados pelo *software* SAS^{*} utilizando o procedimento GLM. Para comparação entre os tratamentos foi utilizado o teste T, sendo utilizado o nível de significância de 5%. O modelo utilizado foi como descrito abaixo.

$$Y_{ijkl} = \mu + O_i + B_j + OB_{ij} + Q_k + A_l + e_{ijkl}$$

μ = Constante geral (média);

O_i = Efeito da ocitocina;

B_j = Efeito do bezerro;

OB_{ij} = Efeito da interação

Q_k = Efeito do quadrado;

A_l = Efeito do animal;

e_{ijkl} = Erro aleatório.

Com a finalidade de obter a homogeneidade da variância das variáveis, foi realizada a transformação dos dados de CCS e CBT, utilizando o arco seno da raiz quadrada:

$$\text{Arcsen } \sqrt{X} = Y$$

Onde,

X = dados coletados;

Y = dados homogeneizados.

Tabela 1 – Composição química e proporção de ingredientes da dieta oferecida aos animais durante o período experimental

Alimento	% com base na Matéria Seca
Capim elefante	35,00
Cana de açúcar picada	30,00
Milho moído	20,00
Farelo de soja (44%)	12,00
Uréia	1,35
Sulfato de amônio	0,15
Suplemento mineral ¹	1,50
Conteúdo nutricional	% com base na Matéria Seca
NDT	64,72
PB	14,19
FDN	46,79
EE	3,21

¹Composição centesimal: Calcário - 27,0%, f. bicálcico - 31,5%, sal - 36,7%, flor de S - 4,1%, sulfato de Cu - 0,10%, sulfato de Zn - 0,65%, iodato de K - 0,006%, sulfato de Co - 0,001%, selenito de sódio - 0,002% e veículo qsp

Resultados

Não houve efeito de interação entre a presença do bezerro e a utilização de ocitocina para nenhuma das variáveis estudadas ($P > 0,05$, Tabela 2) e, desta forma, os efeitos foram analisados separadamente. Os animais ordenhados com os bezerros lactentes ou com a utilização de ocitocina exógena apresentaram maior produção diária de leite em relação ao tratamento controle ($P < 0,05$, Tabela 2). As variáveis de qualidade (CCS/mL e CBT/mL) do leite não foram afetadas pela aplicação de ocitocina exógena ou presença do bezerro na ordenha ($P > 0,05$, Tabela 2). A porcentagem dos constituintes do leite (gordura, proteína, lactose, sólidos totais e extrato seco desengordurado) não foi afetada, mesmo havendo o aumento da produção de leite devido à aplicação de ocitocina ou à presença do bezerro durante a ordenha ($P > 0,05$, Tabela 2).

Discussão

Os resultados do presente estudo indicam que se pode optar em utilizar tanto a ocitocina exógena quanto a presença do bezerro durante a ordenha de vacas mestiças (Holandesa x Zebu) como estímulo para a remoção do leite residual. Tal fato demonstra que ambos os métodos isoladamente são eficientes

ao estímulo à remoção de todo o leite produzido pela glândula mamária e armazenado nos canalículos, canais e alvéolos mamários.

A exemplo deste trabalho, Mendoza et al.³ reportaram a que permanência do bezerro durante a ordenha estimulou uma maior produção láctea. Belo e Brukmaier¹⁰ também verificaram a eficiência da ocitocina exógena como estimulante à contração dos alvéolos mamários e, conseqüente, aumento na produção leiteira. As vacas que não foram submetidas nem à presença do bezerro na ordenha nem à aplicação da ocitocina exógena, apresentaram menor produção leiteira, provavelmente devido a baixos níveis séricos de ocitocina durante a ordenha. Porcionato, Negrão e Lima¹⁶ verificaram que vacas meio sangue ($\frac{1}{2}$ Holandês, $\frac{1}{2}$ Zebu) têm maior dificuldade em elevar os níveis séricos de ocitocina (mais que 3 minutos) que vacas $\frac{3}{4}$ HZ ($\frac{3}{4}$ Holandês, $\frac{1}{4}$ Zebu) e vacas holandesas puras (1 a 2 minutos).

O estímulo positivo que ativa a liberação da ocitocina, pode ser neutralizado por outras substâncias (catecolaminas, β -endorfina e/ou cortisol) que são liberados em situações estressantes¹⁷. O manejo de ordenha é um fator estressante maior para vacas mestiças que para vacas holandesas¹⁶, desta maneira sendo

Tabela 2 – Produção e qualidade do leite de vacas mestiças ordenhadas com ou sem a presença do bezerro e com ou sem o uso de ocitocina exógena

	Utilização de ocitocina		Presença do bezerro			P		
	sim	não	sim	não	CV (%)	Ocitocina	Bezerro	O*B
Produção de Leite (kg/dia)	8,37	6,16	8,97	5,57	21,16	0,005*	0,043	ns
CBT x 10 ³ /mL	1659	1877	1747	2007	30,23	ns	ns	ns
CCS x 10 ³ /mL	2142	1967	1457	2704	24,03	ns	ns	ns
Gordura (%)	4,2	4,0	4,4	3,9	18,56	ns	ns	ns
Proteína (%)	3,7	3,6	3,6	3,6	6,15	ns	ns	ns
Lactose (%)	4,2	4,0	3,8	4,1	15,39	ns	ns	ns
Sólidos totais (%)	12,6	13	13,4	12,7	11,16	ns	ns	ns
Extrato seco desengordurado (%)	8,4	9,0	9,0	8,8	11,16	ns	ns	ns

* = apresentara diferença significativa pelo teste de F ($P < 0,05$), e ns = não apresentara diferença significativa pelo teste de T ($P > 0,05$)

um fator adicional à inibição da síntese de ocitocina endógena, potencializando a retenção láctea.

Por outro lado, Silveira, Machado Filho e Hötzel¹⁸ verificaram alta liberação de leite residual após a ordenha ao se aplicar ocitocina exógena. Devido às dificuldades de manejo em sistemas de produção de leite com vacas com a presença do bezerro, a utilização de ocitocina exógena pode ser uma alternativa prática e barata a esta presença durante a ordenha. Entretanto, ainda necessita-se estudos a fim de avaliar os efeitos a longo prazo da utilização de ocitocina exógena durante a ordenha.

No presente trabalho, os parâmetros de qualidade do leite não foram afetados, com a ocorrência de grande retenção láctea (sem bezerro e sem ocitocina). Tal resultado contradiz a literatura sobre os efeitos da retenção láctea nas vacas e sua influência em parâmetros referentes à qualidade do leite, principalmente, a contagem de células somáticas e a de unidades formadoras de colônias^{4,19}. A retenção láctea pós-ordenha na glândula mamária é um significativo fator predisponente a ocorrência e desenvolvimento de infecções causadoras de mamites²⁰. Sant'ana et al.⁷, ao provocarem uma retenção láctea de 10%, verificaram o aparecimento de um processo inflamatório irritativo não infeccioso.

A exemplo do presente trabalho, Ribeiro et al.²¹ também não verificaram nenhuma alteração ao avaliar os constituintes do leite de ovelhas sob utilização de ocitocina exógena ou não. Geralmente, o aumento da produção de leite provoca uma diminuição dos constituintes do leite por efeito de diluição²⁰. Para Rosenfeld²², a retenção láctea determinou diminuição da concentração de lactose, entretanto, isso não aconteceu no presente trabalho. O menor conteúdo de lactose no leite de animais com mamite seria resultado da diminuição na síntese por diminuição no fluxo sanguíneo, disponibilizando menor quantidade de glicose como substrato²². Entretanto, no presente trabalho não foram identificadas diferenças entre a CCS e CBT no leite de animais com (sem a presença do bezerro

e sem a utilização de ocitocina) e sem retenção láctea (demais tratamentos) resultando na igualdade da concentração de lactose do leite entre os tratamentos.

A gordura do leite é composta principalmente por triglicerídeos, sendo 50% da gordura sintetizada nos ácinos da glândula mamária cujo substrato são os ácidos graxos de cadeia curta (aceta e β -hidroxibutirato), produzidos a partir da fermentação de carboidratos no rúmen²². Os demais 50% da gordura láctea são sintetizados a partir de ácidos graxos de cadeia longa obtidos diretamente da dieta ou então por mobilização da reserva orgânica de gordura²³. Por tais razões, os valores de referência para os teores de gordura no leite foram considerados de complexa determinação, pois, além de sofrerem variações intrínsecas, relacionadas ao metabolismo individual, dependeriam da dieta e manejo nutricional do animal, sendo a retenção láctea e a infestação bacteriana na glândula mamária de pouca influência nesse parâmetro.

A maioria da proteína total do leite é composta pela caseína e outras frações proteicas, principalmente, α -lactoalbumina e β -lactoalbumina, as quais são sintetizadas no úbere a partir de aminoácidos essenciais e não essenciais provenientes da circulação sanguínea²². A produção das proteínas lácteas está relacionada à disponibilidade de carboidratos fermentescíveis e proteínas degradáveis fornecidas pela alimentação e metabolizadas no rúmen²⁴. O restante da proteína total é constituído por várias frações proteicas, principalmente de albumina e globulinas séricas²⁵. Assim a constituição proteica do leite seria afetada principalmente por fatores nutricionais, novamente sendo a retenção láctea pouco influente neste parâmetro.

Conclusão

A presença do bezerro durante a ordenha e a administração de ocitocina exógena estimula a produção leiteira de vacas mestiças, o que resulta em menor retenção láctea, com produção adicional média de 2,58

kg/dia em relação a vacas sem bezerro ou sem administração de ocitocina exógena. Ambas, a presença do bezerro durante a ordenha, e a administração de

ocitocina exógena não afetam os parâmetros de qualidade e composição do leite de vacas meio sangue (Holandesa x Gir).

Referências

- CAMPOS, O. F.; LIZIEIRE, R. S.; DERESZ, F.; MATOS, L. L. de; RODRIGUES, A. A.; MOREIRA, P. Sistemas de aleitamento natural controlado ou artificial. I. Efeitos na performance de vacas mestiças holândês-zebu. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 22, n. 3, p. 413-422, 1993.
- COMBELLAS, J.; TESORERO, M. Cow-calf relationship during milking and its effect on milk yield and calf live weight gain. **Livestock Research for Rural Development**, v. 3, n. 15, p. 1-9, 2003.
- MENDOZA, A.; CAVESTANY, D.; ROIG, G.; ARIZTIA, J.; PEREIRA, C.; LA MANNA, A.; CONTRERAS, D. A.; GALINA, C. S. Effect of restricted suckling on milk yield, composition and flow, udder health, and postpartum anoestrus in grazing Holstein cows. **Livestock Science**, v. 127, n. 1, p. 60-66, 2010.
- NEGRÃO, J. A.; MARNET, P. G. Effect of calf suckling on oxytocin, prolactin, growth hormone and milk yield in crossbred Gir x Holstein cows during milking. **Reproduction Nutrition Development**, v. 42, n. 4, p. 373-380, 2002.
- MARNET, P. G.; NEGRÃO, J. A. The effect of a mixed management system on the release of oxytocin, prolactin and cortisol in ewes during suckling and machine milking. **Reproduction Nutrition Development**, v. 40, n. 3, p. 271-281, 2000.
- MURUGAIYAH, M.; RAMAKRISHNAN, P.; OMAR, A. R.; KNIGHT, C. H.; WILDE, C. J. Lactation failure in crossbred Sahiwal Friesian cattle. **Journal of Dairy Research**, v. 68, n. 2, p. 165-174, 2001.
- SANT'ANA, V. A. C.; BIRGEL, E. H.; ROSENFELD, A. M. F.; SOARES, P. C. Proteinograma do leite de vacas lactantes submetidas à retenção láctea. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, n. 2, p. 262-269, 2006.
- BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P.; VERNEQUE, R. S. Contagem bacteriana da superfície de tetas de vacas submetidas a diferentes processos de higienização, incluindo a ordenha manual com participação do bezerro para estimular a descida do leite. **Ciência Rural**, v. 30, n. 5, p. 847-850, 2000.
- ALLEN, J. C. Milk synthesis and secretion rates in cows with milk composition changed by oxytocin. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 4, p. 975-984, 1990.
- BELO, C. J.; BRUCKMAIER, R. M. Suitability of low-dosage oxytocin treatment to induce milk ejection in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 1, p. 63-69, 2010.
- KUMARASAMY, P.; NITESH, K. Oxytocin: uses, misuses and its residual effects. **Journal North-East Veterinarian**, v. 10, n. 1, p. 29-30, 2010.
- KASKOUSA, S.; BRUCKMAIER, R. M. Best combination of pre-stimulation and latency period duration before cluster attachment for efficient oxytocin release and milk ejection in cows with low to high udder-filling levels. **Journal of Dairy Research**, v. 78, n. 1, p. 97-104, 2011.
- BENTLEY INSTRUMENTS. **Bentley 2000 Operator's Manual**. Chaska: Bentley Co., 1995a. p. 77.
- BENTLEY INSTRUMENTS. **Somacount 300 Operator's Manual**. Chaska: Bentley Co., 1995b. p. 12.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. rev. ed. Washinton, D.C.: National Academy of Sciences, 2001. 381 p.
- PORCIONATO, M. A. F.; NEGRÃO, J. A.; LIMA, M. L. P. Produção de leite, leite residual e concentração hormonal de vacas gir x holandesa e holandesa em ordenha mecanizada exclusiva. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 6, p. 820-824, 2005.
- WELLNITZ, O.; BRUCKMAIER, R. M. Central and peripheral inhibition of milk ejection. **Livestock Production Science**, v. 70, n. 1/2, p. 135-140, 2001.
- SILVEIRA, M. C. A. C.; MACHADO FILHO, L. C. P.; HÖTZEL, M. J. Efeito da massagem do úbere ao final da ordenha no leite residual e na ocorrência de mastite em vacas leiteiras. **Revista Biotemas**, v. 22, n. 1, p. 129-134, 2009.
- MADALENA, F. E.; TRIVEDI, K. R. Experience with performance recording of dairy cattle in Brazil. **ICAR Technical Series**, v. 1, p. 235-246, 1998.
- BIRGEL, E. H. Avaliação das provas utilizadas no diagnóstico da mamite bovina. In: BIRGEL, E. H.; BENESI, F. J. **Patologia clínica veterinária**. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1982. p. 177-213.
- RIBEIRO, L. C.; PEREZ, J. R. O.; CARVALHO, P. H. A.; SILVA, F. F. e; MUNIZ, J. A.; OLIVEIRA JÚNIOR, G. M. de; SOUZA, N. V. de. Produção, composição e rendimento em queijo do leite de ovelhas Santa Inês tratadas com ocitocina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 2, p. 438-444, 2007.
- ROSENFELD, A. M. F. **Retenção láctea: fator etiológico predisponente às inflamações da glândula mamária de bovinos**. 2005. 129 f. Dissertação (Mestre em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo. 2005.
- CARVALHO, M. P. Manipulação da composição do leite por meio de balanceamento de dietas de vacas leiteiras. In: FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. (Ed.). **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos, 2000. p. 163-169.
- CORDEIRO, C. F. A.; PEREIRA, M. L. A.; MENDONÇA, S. S.; Paulo José Presidio ALMEIDA, P. J. P.; AGUIAR, L. V.; FIGUEIREDO, M. P. de. Consumo e digestibilidade total dos nutrientes e produção e composição do leite de vacas alimentadas com teores crescentes de proteína bruta na dieta contendo cana-de-açúcar e concentrados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 6, p. 2118-2126, 2007.
- PRATA, A. S.; SGARBIERI, V. C. Obtenção e caracterização química e nutricional *in vitro* das proteínas do soro de sangue bovino. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 327-332, 2005.