

UNIVERSIDADE DOS AÇORES

Departamento de Biologia



Azoto Ureico no Leite (AUL/MUN)

Uma ferramenta de gestão ambiental e nutricional

O caso de São Miguel

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AMBIENTE SAÚDE E SEGURANÇA

Duarte Nuno de Sousa Amorim

Orientador

Professor José Estevam da Silveira Matos

PONTA DELGADA

2008

Agradecimentos

Ao Professor Doutor José Estevam da Silveira Matos pela amizade, pelo voto de confiança ao aceitar ser meu orientador, pela sugestão do tema, pela paciência e disponibilidade em acompanhar todo o trabalho.

Ao Director do SERCLA o Engenheiro Nuno Pereira pela disponibilidade e simpatia em fornecer todos os meios ao alcance da sua pessoa para o trabalho de pesquisa e de recolha de dados.

À Dra. Fátima Cabral pela sua disponibilidade em todos os aspectos técnicos relacionados com o laboratório do SERCLASM

Ao Eng. Informático Damas Coelho do IAMA que pacientemente extraiu todos os dados de classificação do leite dos primeiros turnos de cada mês estudado.

Ao meu colega Bruno Pinto pela sua amizade e disposição em colaborar com o programa de Estatística SPSS 15.0 for Windows.

Aos meus pais José e Judite Amorim pelo incentivo que me deram para avançar com este trabalho de Mestrado.

Á minha mulher Ana Paula e aos meus filhos João Nuno e Afonso, que me dispensaram todo o seu ânimo e carinho, e boa parte do seu tempo para que eu pudesse prosseguir com os trabalhos nesta Tese.

Índice

Resumo

Abstract

Abreviaturas

Introdução.....13

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1-A ilha de São Miguel e a caracterização das suas explorações leiteiras..15

2- Composição do leite e os factores da dieta susceptíveis de a fazer variar.....16

2.1.- Factores da dieta que influenciam o Teor Proteico.....16

3 – O Azoto e o índice de Azoto Ureico no Leite.....23

3.1. – Metabolismo proteico dos Ruminantes.....23

3.1..1. – Relação Energia/Proteína e utilização do azoto no Rúmen.....23

3.2. – A Ureia como Metabolito.....24

3.2.1. – O ciclo da Ureia.....24

3.2.2. –Origem do azoto Ureico no Leite (AUL/MUN).....26

3.2.3. – O Azoto Ureico no Leite (AUL/MUN) como indicador de consumo de Proteína Bruta.....26

3.2.4. – Concentrações de Azoto Ureico no sangue.....27

3.3. – Factores de variação do Azoto Ureico no Leite28

3.3.1. – Alimentação.....28

3.3.2. – Produção de Leite.....29

3.3.3. – Fase de lactação.....30

3.3.4. – Peso Vivo – Genética.....	31
4- Influência do nível de Ureia na Reprodução.....	31
5 – A Ureia e o Ambiente.....	33
5.1 – O Azoto Ureico no Leite (AUL/MUN) como indicador de impacto ambiental da exploração pecuária.....	36
6 – Principais processos de ganhos e fluxos de perda de azoto no solo.....	38
6.1.- Mobilização e Imobilização.....	38
6.2. – Desnitrificação.....	40
6.3. - Fixação do Azoto.....	40
6.4. – Principais fluxos de perda de azoto.....	41
6.4.1 – Lixiviação do ião Nitrato.....	41
6.4.2. – Perda de azoto gasoso.....	42
6.4.3. – Fertilização deficiente.....	42
7 – Legislação Ambiental.....	43
7.1.-Protecção dos Lençóis de Água.....	43
7.2.- Código de Boas Práticas Agrícolas.....	45
7.3. – Regime jurídico de licenciamento das explorações bovinas da Região Autónoma dos Açores.....	46
8 – Intoxicação por nitratos e nitritos.....	47
9 – A contagem das células somáticas no leite como indicador da saúde produtiva dos rebanhos e qualidade do leite.....	48
10 – A Ureia versus a Qualidade e a Produção de Queijo.....	54

TRABALHO EXPERIMENTAL

11- Materiais e Métodos.....	55
12- Resultados e Discussão.....	56
13 - Conclusões.....	67
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
ANEXOS.....	78

Índice de Figuras

Figura 1 - Origens e vias de excreção da ureia na vaca leiteira (adaptado de Cudoc. 1996).....	18
Figura 2 – Concentração de AUL/MUN no leite vs custos alimentares (adaptado de Godden et al. 2001c).....	20
Figura 3 - Variação dos valores de AUL/MUN no leite individual em vacas Holstein (n = 387.206), Jersey (n = 5544) e Brown Swiss (n = 5496), durante 29 meses de um estudo na Universidade de Wisconsin, USA (adaptado de Wattiaux et. Al, 2005).....	21
Figura 4 - Ciclo da ureia (adaptado de Maynard et al. 1979).....	25
Figura 5 - Associação entre o teor alimentar de PB/CP e o AUL/ MUN (adaptado de Nousiainen et al.2004).....	27
Figura 6 - AUL/MUN vs. Azoto Ureico no Plasma (AUP/PUN) em vacas em início, meio , e fim de lactação (adaptado de Burgos et al. 2007)	28
Figura 7 - Variação da concentração de AUL/MUN em função do nível de produção (adaptado de Jonker et al. 1999).....	30
Figura 8 – Destino do azoto no meio ambiente.....	35
Figura 9 – Excreção de azoto Ureico Urinário (AUU) vs. Azoto Ureico no Leite (adaptado de Burgos et al. 2007).....	37
Figura 10 – O ciclo do azoto (adaptado de Stevenson 1986; citado por Trindade 1997).....	40

Figura 11 – Histograma de distribuição dos produtores de leite da Ilha de S.Miguel de acordo com o teor proteico do seu leite em amostragem do mês de Julho de 2008....	56
Figura 12 – Histograma de distribuição dos produtores de leite da Ilha de S.Miguel de acordo com o teor proteico do seu leite em amostragem do mês de Outubro de 2008.....	56
Figura 13 – Histograma de distribuição dos produtores de leite da Ilha de S.Miguel de acordo com o teor butiroso do seu leite em amostragem do mês de Julho de 2008.....	58
Figura 14 – Histograma de distribuição dos produtores de leite da Ilha de S.Miguel de acordo com o teor butiroso do seu leite em amostragem do mês de Outubro de 2008.....	59
Figura 15 – Histograma de distribuição dos produtores de leite da Ilha de S.Miguel de acordo com a contagem de células somáticas do seu leite em amostragem do mês de Julho de 2008.....	60
Figura 16 – Histograma de distribuição dos produtores de leite da Ilha de S.Miguel de acordo com a contagem de células somáticas do seu leite em amostragem do mês de Outubro de 2008.....	60
Figura 17 – Distribuição percentual dos produtores de leite (n=1609 produtores), de acordo com contagem de células somáticas (x1000), em leite do rebanho, em São Miguel, no mês de Julho e de Outubro de 2008.....	61
Figura 18 – Histograma de distribuição dos produtores de leite da Ilha de S.Miguel de acordo com o AUL/MUN em amostragem do mês de Julho de 2008.....	63

Figura 19 – Histograma de distribuição dos produtores de leite da Ilha de S.Miguel de acordo com o AUL/MUN em amostragem do mês de Outubro de 2008.....63

Figura 20 – Distribuição percentual de produtores de leite da Ilha de S.Miguel (n=1609 produtores) em função da concentração do AUL/MUN, em mg/dl, em Julho e Outubro de 2008.....66

Índice de Quadros

Quadro 1 - Composição média (%) do leite de diferentes raças de bovinos leiteiros (Fonte: Harris e Bachman, 1988.....	16
Quadro 2 – Estudo de diversas níveis de ingestão de Proteína e as respectivas produções de leite, valores de azoto ureico no sangue e no leite (adaptado de Roseler et al. 1993).....	19
Quadro 3 – Correlação negativa entre a CCST e a produção dos rebanhos leiteiros (adaptado de Harmon 1994).....	51
Quadro 4 – Síntese dos efeitos negativos associados à CCST e às alterações da composição do leite.....	52
Quadro 5 – Correlação entre a Contagem de Células Somáticas, a quantidade de leite entregue pelos produtores, a percentagem de proteína e de gordura do leite.....	62
Quadro 6 – Quadro interpretativo dos valores de AUL/MUN, em leite de rebanhos, em função do teor proteico do leite (adaptado de : Hutjens e Barmore,1995).....	66
Quadro 7 – Correlação entre os valores de AUL/MUN, a quantidade de leite entregue pelos produtores, a percentagem de proteína e de gordura do leite.....	68

Resumo

Os factores de produção de leite têm sofrido incrementos de preço acentuados, nos últimos, tempos. Sendo os custos com a alimentação os mais relevantes na produção de leite, o desperdício alimentar, em particular de proteína, pesa muito no saldo financeiro das explorações leiteiras. Por outro lado os excessos de alimentação proteica têm impactos no ambiente, na qualidade do leite dos lacticínios, bem como, eventualmente na saúde pública.

O objectivo principal do presente trabalho foi o de fazer um primeiro levantamento da quantidade de Azoto Ureico no Leite nas explorações leiteiras da Ilha de S. Miguel, procurando-se averiguar das possíveis relações deste parâmetro analítico com outros parâmetros da qualidade do leite, nomeadamente a Contagem de Células Somáticas. Para tal, em colaboração com o Serviço Regional de Classificação do Leite da Ilha de S. Miguel (SERCLASM), foram realizadas análises a 1609 amostras de leite, no mês de Julho, e 1607 amostras no mês de Outubro, de 2008, correspondentes a amostras de leite dos rebanhos da Ilha - uma amostra representativa do total de explorações leiteiras que se situa em torno das 1673.

Constatou-se que a análise do azoto ureico no leite (AUL/MUN) é uma ferramenta interessante, barata, simples de executar, para se monitorizar a adequação e a eficiência de utilização do azoto em vacas leiteiras. Os valores obtidos, em relação às referências internacionais, situaram-se dentro da normalidade no mês de Julho. Já em Outubro os valores foram em média de 21,66 mg/dl, facto que indicia práticas nutricionais desajustadas às reais necessidades dos animais dos rebanhos estudados. Face aos resultados obtidos recomenda-se, nomeadamente, que, nos rebanhos com baixo teor de proteína no leite e, simultaneamente, elevados níveis de AUL/MUN, se suplementem as vacas com silagem de milho, ou um concentrado constituído pela mistura de pelo menos dois cereais, por exemplo cevada e milho, ou milho e farinha de mandioca, no sentido de sincronizar a libertação de N com a disponibilidade de energia no rúmen, maximizando-se a síntese de proteína pela flora ruminal, minimizando-se a excreção de azoto e os riscos ambientais e, eventualmente, riscos para a saúde pública, através da possível contaminação de águas superficiais e lençóis freáticos que constituem fonte de abastecimento de água de consumo.

A situação constatada de um número médio muito elevado de células somáticas nos leites dos rebanhos estudados, de 511.000 no mês de Julho e de 449.000 células no mês de Outubro, faz-nos pressupor que não são seguidas boas práticas no controlo das mamites em muitos rebanhos da Ilha. A adopção das principais 5 medidas de controlo das mamites garantiria, certamente, uma melhoria a curto, médio prazo desta situação com vantagens óbvias para o rendimento do agricultor, para a indústria e para a saúde pública. Recomenda-se a realização do Teste Californiano de Mamites (TCM) em São Miguel, como prova de triagem dos maus leites, no momento da recepção do leite.

Os valores de correlação encontrados entre os valores de AUL/MUN e os outros parâmetros do leite, em particular o da correlação negativa com a Contagem de Células Somáticas, deveria justificar um estudo mais aprofundado.

Abstract

Recently production factors have suffered very high increases in their prices. Being that the costs with the diet are the most significant to what accounts for milk production income, wasting protein most of all, weighs too much on the final economical balance of the herd's management. On the other hand high excessive protein feeding have huge impact on environment, on dairy products quality as well as on Public Health eventually.

The main goal of this work was the collection of data from the different amounts of Milk Urea nitrogen found for the first time in all of the dairy herds of St. Michaels Island, seeking also for eventual simple correlation factors between MUN and other milk quality indexes, like Somatic Cell Counting and others. For that purpose this work was developed in association with the Regional Service of Milk Classification of St Michael island (SERCLASM), so that 1609 milk samples in July, and 1607 in October could be analysed, wich corresponds to the totality of dairy farmers that deposited milk in the factorys, this sampling is considered representative as it includes the almost totality of dairy farmers in the island wich summarises 1637 all together.

It's been proven that the MUN analysis is in fact an interesting tool, sheap, ready to use, so that the efficiency of protein utilization in cows feeding diets can be adequately evaluated. The results of the study, are in reference to those internationally accepted as normal in July. In October the mean value found was 21,66 mg/dl, wich proves inadequate feeding practices to meet cow's real need. With this kind of results it is recommended that herds with low Crude Protein and high MUN levels, should supplement diets with corn silage, or a total mixed ration composed with two cereals, as oat and green corn , or green corn with cassava flour, so that enough Nitrogen can be released at the same time as there is enough energy available in the rumen, in the way to maximize Microbian Protein Synthesis, and then minimize the Nitrogen excretion wich causes damages not only to environment but also to the Public Health as to the Public-consumption water polution.

The data collected revealed a mean value of somatic cell counting as high as 511.000 in July and 449.000 cells in October, wich makes us suppose no good practices in mastitis control have been taken down in many herds of the island. The 5 main measures for controlling mastitis infection, surely would bring better results, and some further obvious advantages in the herd management income, as would also bring improvements to the cheese industry, as for Public Health. We recommend the utilization of the Californian Mastitis Test in St Michael island as a milk trial at the time of reception on the factory.

The simple correlation factors found between MUN and other milk indexes, mainly the negative correlation found between MUN and SCC , deserves further evaluation .

Abreviaturas

A/N	Azoto
AUL /MUN	Azoto Ureico no Leite
AUS/BUN	Azoto Ureico no Sangue
AGV/VFA	Ácidos Gordos Voláteis
ANP/NPN	Azoto Não Proteico
AUP/PUN	Azoto Ureico no Plasma
AUU/UUN	Azoto Ureico Urinário
CCS/SCC	Contagem de Células Somáticas
CNF/NFC	Carboidratos Não Fibrosos
EM/ME	Energia Metabolizável
FDA/ADF	Fibra Insolúvel em Detergente Ácido
FDN/NDF	Fibra Insolúvel em Detergente Neutro
IA/NI	Ingestão de azoto
L	Leucócitos
LPS	Lipopolissacáridos
M	Macrófagos
MS/DM	Matéria Seca
EL/NEL	Energia líquida para a lactação

PDI/DIP	Proteína Degradável Ingerida
PDR/RDP	Proteína Degradável no Rúmen
PMN	Leucócitos polimorfonucleares
PNDR/RUP	Proteína Não Degradável no Rúmen
TB /F	Teor Butiroso
TP/CP	Teor Proteico
UL/MU	Ureia no Leite

INTRODUÇÃO

O presente trabalho teve por principais objectivos fazer um primeiro levantamento da quantidade de Azoto Ureico no Leite nas explorações leiteiras da Ilha de S. Miguel, procurando-se averiguar possíveis relações deste parâmetro analítico com outros parâmetros da qualidade do leite, nomeadamente a Contagem de Células Somáticas. O maneio alimentar das vacas é muito importante em relação à qualidade do leite que se pretende obter. Existem no entanto outras implicações para o facto de se não controlar a quantidade de proteína que é administrada aos animais. O excesso de proteína tem um custo elevado para a economia das explorações. Deveria por isso haver uma maior preocupação na gestão da utilização desta, precavendo-se gastos excessivos ou desnecessários, minimizando-se ainda os impactos ambientais e na saúde pública devido ao excesso de azoto, sem nunca se descurar no entanto o objectivo último que será a produção leiteira.

Os lavradores, com o objectivo de maximizarem a produção de erva, adubam as terras com compostos de azoto e fósforo, muitas vezes, de um modo empírico, daí que essas ervas tenham um elevado teor de azoto. Para além disso quando se suplementam os animais não se leva em conta a composição de cada um dos elementos da mistura, fazendo com que a ração final seja desequilibrada por vezes excessivamente rica em determinado elemento, como no caso, de proteína, acima dos requisitos nutricionais dos animais. Este balanço em termos nutricionais tem todo o interesse em ser conhecido uma vez que se conhecem as consequências ambientais do excesso de azoto e implicações na saúde animal que possam existir, mormente ao nível da saúde reprodutiva, e em última análise para a saúde humana também.

A determinação do Azoto Ureico no Leite (AUL/MUN= Milk Urea Nitrogen) permite ter uma ideia deste balanço, quer em termos individuais, quer em termos do rebanho, uma vez que existe uma relação directa entre o Azoto Ureico no Leite (AUL/MUN) o Azoto Ureico no Sangue (AUS/BUN = Blood Urea Nitrogen) e a excreção de azoto na urina. A determinação analítica de rotina do AUL/MUN poderá ajudar portanto a reduzir os custos alimentares da vaca leiteira, aumentando a eficiência económica da produção de leite, melhorar eventualmente a fertilidade dos rebanhos, e ajudar a

reduzir as potenciais percas de azoto na exploração, minimizando-se o seu impacto ambiental.

A poluição dos lençóis de água, com azoto, pode, por sua vez, ter efeitos adversos na saúde humana. As bactérias do solo convertem o azoto em nitratos. No intestino dos humanos os nitratos lixiviados pela água das chuvas são convertidos em nitritos. Os nitritos por sua vez associam-se à hemoglobina sanguínea, originando compostos de metahemoglobina. A metahemoglobinémia elevada reduz os níveis de oxigénio no sangue, resultando em cianose ou “sangue azulado”, com pouco oxigénio. No caso dos bebés, que são mais susceptíveis, a metahemoglobina encontra-se associada à chamada Síndrome do Bêbé Azul. Este tipo de intoxicação também se verifica nos bovinos normalmente associada ao uso excessivo de ureia como suplemento alimentar ou adubação excessiva das pastagens. A ingestão excessiva de nitritos e de nitratos pode também resultar em cancro nos humanos, relacionado com a possível síntese de nitrosaminas, que têm sido associadas ao cancro do estômago e do esófago.

As superfícies de água que contenham elevado nível de azoto, podem resultar eutrofizadas, já que o crescimento excessivo de algas, estimulado pelo excesso de nutrientes, reduz o oxigénio disponível nas mesmas, e os outros organismos vivos, como a população piscícola, morre afectada por esta falta de oxigénio, contribuindo ainda mais para a depleção dos recursos de oxigénio.

A contagem de células somáticas permite-nos por sua vez avaliar o estado higiénico e sanitário dos úberes das manadas leiteiras. No caso do número de células somáticas, no leite do rebanho, se situar acima das 400.000 células, esse facto indicia um número elevado de casos de mamites, facto que altera a qualidade do leite e dos seus derivados, aumentando os riscos de contaminação destes produtos com bactérias indesejáveis e, eventualmente, resíduos de antibióticos.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1- A Ilha de São Miguel e a caracterização das suas explorações leiteiras

A Ilha de São Miguel tem 742 Km² de área , e está dividida em seis concelhos: Ponta Delgada, Ribeira Grande, Lagoa , Vila Franca do Campo, Povoação e Nordeste.

Ao nível do clima, este apresenta-se como temperado húmido, de elevada pluviosidade, caracterizado por grande imprevisibilidade, com temperaturas moderadas e pequenas variações ao longo do dia e do ano, facto influenciado pela altitude.

A utilização das terras agrícolas é claramente dominada pelas pastagens permanentes (mais de 80%), com explorações especializadas em bovinos de leite. O regime de exploração pecuária é o extensivo, permanecendo os animais em regime de pastoreio permanente ao ar livre em que os animais jovens são deixados a pastar presos por uma corrente, que lhes limita a área de pastagem até que a consumam totalmente, para depois serem mudados. As vacas adultas são exploradas em regime de pastoreio permanente e intensamente, normalmente delimitadas por um fio eléctrico, ou em pequenos “cerrados” cercados de muros feitos de pedra basáltica, característicos dos Açores, que lhes determinam a área a pastorear, não havendo normalmente qualquer período sazonal de estabulação.

A exploração mais comum inclui além destas áreas de pastoreio, uma ordenha móvel, onde, na maioria dos casos, existe água corrente perto desta, ou então um tanque em cima de uma carrinha com a água necessária ao abeberamento e à lavagem dos instrumentos da ordenha e dos úberes das vacas. Algumas explorações possuem um parque de alimentação, onde as vacas são retidas antes da hora da ordenha, parque este por vezes cimentado. Algumas explorações porém possuem sala de ordenha junto desses parques de alimentação e sala de armazenamento do leite com tanque de refrigeração.

O efectivo bovino leiteiro da Ilha ronda os 108.519 animais, dos quais 49.973 são vacas leiteiras, quase todas da raça Holstein-Friesian (alguns, poucos, animais de raça Jersey, ou cruzados), distribuídas por 1.673 explorações, produzindo cerca de 320.000

toneladas de leite. A ordenha é feita mecanicamente, através de ordenhas móveis, ou em sala de ordenha, havendo alguns, poucos, lavradores que ainda fazem a ordenha manualmente.

2- Composição do leite e os factores da dieta susceptíveis de a fazer variar

2.1- Factores da dieta que influenciam o Teor Proteico

O leite cru é, por definição, o produto íntegro da ordenha total de uma fêmea leiteira sadia, bem alimentada, devendo ser ordenhado e acondicionado em condições higiénicas, não conter colostro, nem sofrer qualquer outro tratamento, para além da refrigeração - que deverá ser imediata após a sua ordenha. Contém mais de cem mil tipos de moléculas diferentes, tendo cada uma um papel diferente, mas, de um modo geral, quando falamos da composição do leite, estamos a referir-nos, principalmente, às percentagens de água, proteína, gordura, lactose e cinzas.

Muitos factores contribuem para variações na produção e na qualidade do leite de vaca: o ambiente, a raça (Ver Quadro 1), a idade, fase da lactação, técnicas de ordenha, estado sanitário e infecções de úbere, manejo do rebanho e nível nutricional durante a gestação e lactação.

Quadro 1. Composição média (%) do leite de diferentes raças de bovinos leiteiros.

Raça	Gordura	Proteína	Lactose	Cinzas	Sólidos*
Ayrshire	3,90	3,40	4,81	0,68	8,89
Brown Swiss	3,30	3,00	5,08	0,72	8,80
Guernsey	3,60	3,20	4,96	0,74	8,90
Holstein	3,40	3,20	4,87	0,68	8,75
Jersey	4,40	3,60	5,00	0,70	9,30

*Sólidos isentos de gordura

Fonte: HARRIS e BACHMAN, 1988

A caseína, α -lactoalbumina e β -lactoglobulina (proteínas do soro) são as principais proteínas do leite (Akers, 2002). A percentagem de caseína no leite, que é a proteína que interessa no fabrico do queijo, pode chegar a 78,5%; 16,5% corresponde às proteínas do soro; e 5% constitui o azoto não proteico (Rowland, 1938; citado por DePeters, et al. 1992) do qual 20 a 75 % é Ureia (Kaufman, 1982; citado por DePeters et al. 1992)

A percentagem de proteína no leite só é afectada pela taxa de proteína na dieta quando esta estiver abaixo do mínimo recomendado. Assim, em dietas com níveis de proteína bruta acima de 15% na MS, praticamente não há resposta à suplementação proteica, em termos de aumento no teor proteico e na produção total de proteína bruta no leite.

A suplementação da dieta da vaca com proteína, o nutriente mais caro, deve ser criteriosa, considerando-se não só a quantidade na dieta, como também a sua degradabilidade no rúmen.

O azoto ureico no leite, um sub-produto do metabolismo proteico nos ruminantes, é sensível à Proteína Bruta (PB/CP), à Proteína Degradável no Rúmen (PDR/RDP), à Proteína não degradável no Rúmen (PNDR/RUP), à energia na dieta, e à proporção proteína/energia (Carrol et al., 1988; Macleod et al., 1984; Oltner e Wiktorsson, 1983; Roseler et al., 1993; citados por Godden, et al. 2001a). O teor de proteína bruta na dieta (PB, % de MS) é o factor com mais forte relação com azoto ureico no leite (AUL/MUN) especialmente o excesso de Proteína Degradável no Rúmen (PDR/RDP), pouca energia, desequilíbrio entre teores de carboidratos e proteína e excesso de Proteína Não Degradável no Rúmen (PNDR/RUP). A erva de pastagem tenra, excessivamente adubada é para além disso rica em azoto não proteico.

As proteínas dos alimentos são degradadas no rúmen, gerando grande quantidade de amónia. Esta é incorporada pelos microrganismos na proteína microbiana, mas, muitas vezes a amónia que é gerada ultrapassa a capacidade de utilização por parte dos microrganismos. O azoto absorvido pela vaca leiteira resulta da difusão de amónia através da parede do rúmen e da absorção de aminoácidos e peptídeos no intestino

delgado. A amônia sendo tóxica para o animal é rapidamente convertida em ureia no fígado. Os aminoácidos em excesso, não utilizados para a síntese das proteínas do leite, ou proteínas orgânicas, são desaminados pelo fígado para a produção de energia e o azoto resultante é convertido em ureia. Toda esta ureia, absorvida e produzida metabolicamente constitui o azoto ureico do sangue (AUS/BUN). Este azoto ureico no sangue pode seguir três vias.(Figura 1): reciclagem, pela saliva para o rúmen e eventualmente usada na síntese microbiana, secreção excreção pela urina ou pelo leite. A ureia difunde-se para o alvéolo mamário equilibrando-se com a concentração no sangue e por isso a concentração do AUL/MUN é proporcional à concentração do AUS/BUN

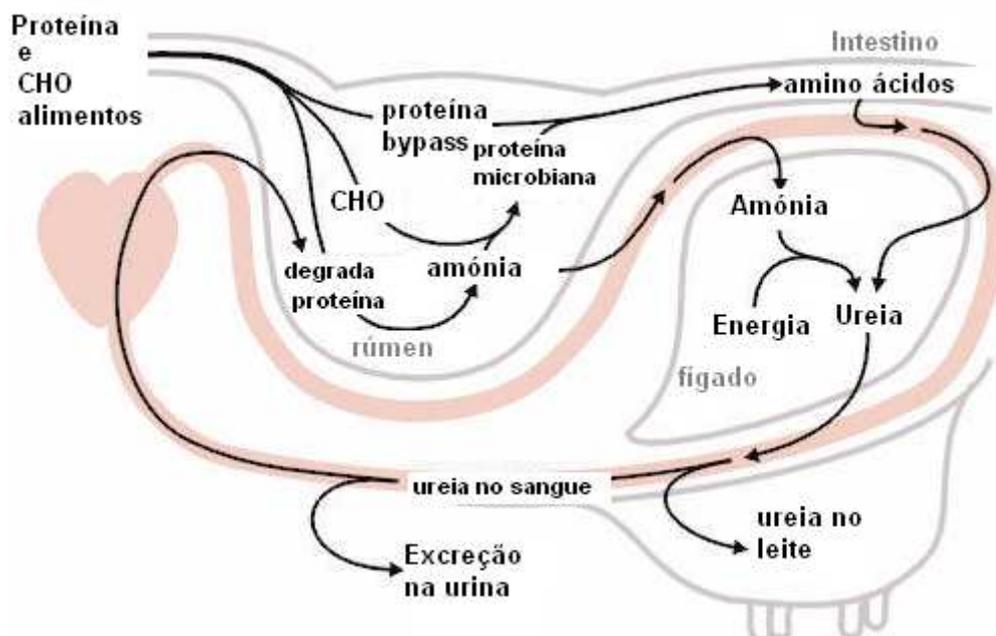


Figura 1- Origens e vias de excreção da ureia na vaca leiteira (Adaptado de Cudoc, 1996)

Um estudo de Roseler et al 1993 (Quadro2) testou não só os efeitos dos índices de proteína na dieta, como também dois tipos de proteína de degradabilidades diferentes, sobre a produção de leite e as concentrações de Azoto Ureico no Leite (AUL/MUN) e a concentração do azoto ureico no plasma sanguíneo (AUP/PUN)

Como se vê pelos resultados deste estudo, a deficiência de proteína (dieta A), bem como os excessos de PNDR/RUP e/ou PDR/RDP (dietas C,D,E), trazem desvantagens em relação à dieta ajustada às exigências do National Research Council - NRC (1989),

que recomenda uma proporção de 35% a 40% da proteína bruta total, como devendo ser proteína não degradável no rúmen.

Quadro 2 – Estudo de diversas níveis de ingestão de Proteína e as respectivas produções de leite, valores de azoto ureico no sangue e no leite . (Adaptado de Roseler et al., 1993)

Dietas	A	B	C	D	E
PB/CP	12,2	15,2	15,5	16,4	17,6
PNDR/RUP	80	100	120	100	120
PDR/RDP	80	100	80	120	120
Leite(Kg/dia)	23,6	26,4	24,4	25,2	26,0
AUP/PUN (mg/dl)	8,2(d)	14,8(c)	16,5(b)	17,8(b)	20,7(a)
AUL/MUN (mg/dl)	5,6(d)	11,6(c)	13,4(b)	14,4(b)	17,8(a)
ANP/NNP	28,7(c)	33,9(b)	35,6(b)	36,8(b)	39,9(a)

PNDR/RUP- Proteína não Degradável no Rúmen (% recomendada pelo NRC, 1989)

PDR/RDP- Proteína Degradável no Rúmen (% recomendada pelo NRC, 1989)

a,b,c,d (P<0,05)

ANP/NNP – Azoto Não Proteico

Este trabalho mostra também que as dietas com o mesmo teor de proteína, mas de degradabilidades diferentes (dietas B e C) dão resultados diferentes, não somente em termos de produção de leite, como também em relação ao índice de AUL/MUN e ANP/NNP e o teor de caseína no leite. Alguns autores estabelecem mesmo uma relação entre os níveis de AUL/MUN e os custos de alimentação (Ver Figura 2)

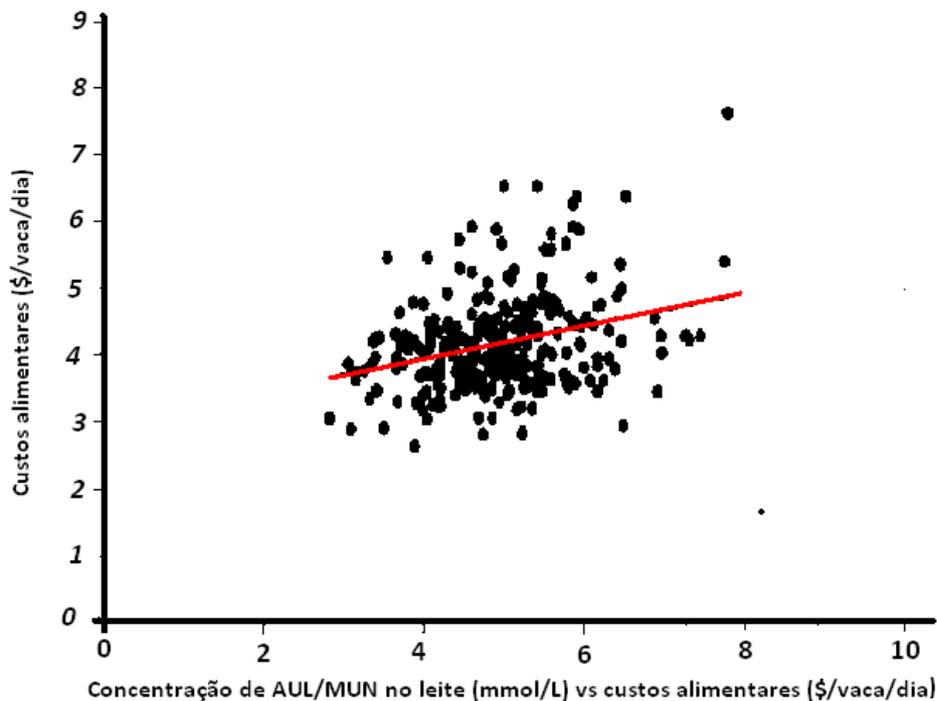


Figura 2. Concentração de AUL/MUN no leite vs custos alimentares ($P < 0.05$). (Adaptado de Godden et al. 2001c)

Existem ainda vários outros factores que afectam a concentração de AUL/MUN no leite: produção de leite, teor proteico do mesmo, raça, fase da lactação, ordenha, época do ano etc. (Ver Figura 3). De entre estes factores os que mais afectam a concentração de AUL/MUN são o nível de produção de leite e o teor proteico do mesmo. Com o aumento da produção as concentrações previstas de AUL/MUN aumentam linearmente. O peso corporal e a raça também influenciam, por exemplo, uma vaca da raça Jersey, produzirá um leite com uma mais elevada concentração de AUL/MUN.

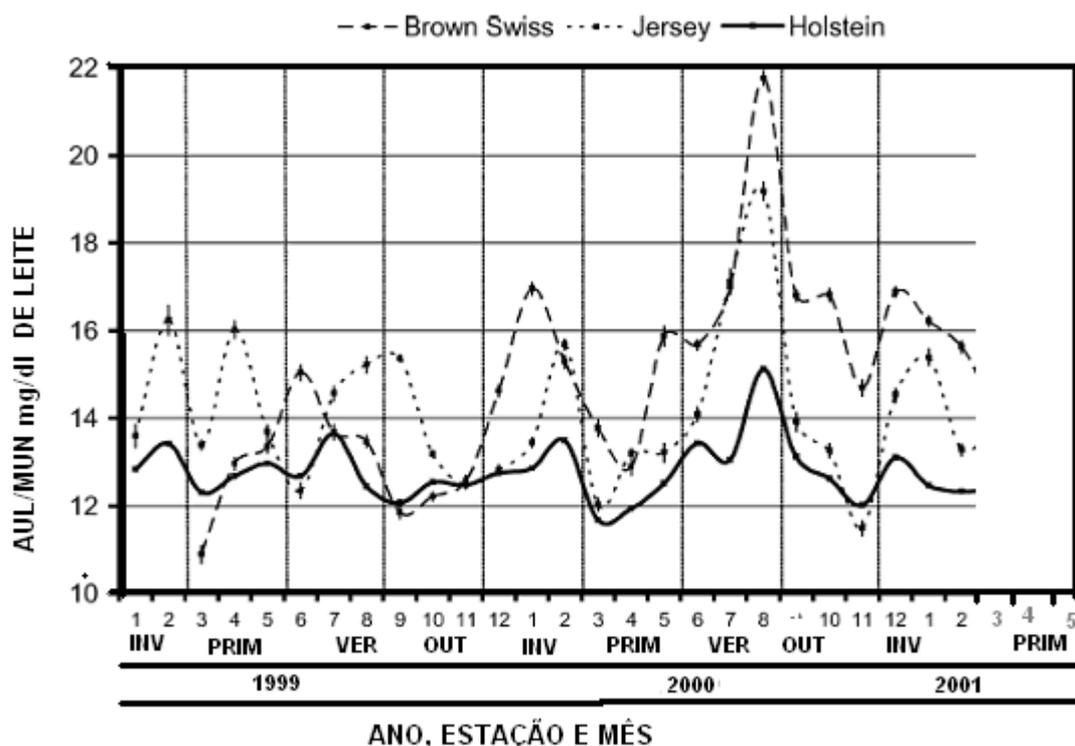


Figura 3. Variação dos valores de AUL/MUN no leite individual em vacas Holstein (n = 387.206), Jersey (n = 5544) e Brown Swiss (n = 5496), durante 29 meses de um estudo na Universidade de Wisconsin, USA. (Adaptado de Wattiaux et.al, 2005)

A análise do azoto ureico no leite (AUL/MUN) é uma ferramenta interessante para se monitorizar a adequação e a eficiência de utilização do azoto em vacas leiteiras.

O excesso de proteína na dieta, além de aumentar os custos da alimentação da vaca leiteira, sem retorno em produção de leite, pode diminuir a eficiência reprodutiva dos rebanhos diminuindo a fertilidade das vacas. Por outro lado, a falta de proteína na dieta pode também limitar a produção de leite pela diminuição de precursores para a síntese do leite na glândula mamária. O uso dos valores de AUL para ajustar os teores de proteína bruta da dieta às necessidades das vacas e, potencialmente, aumentar a produção, bem como para otimizar o uso de adubos azotados na pastagens, minimizando-se, quer os custos, quer os impactos ambientais, e na saúde dos animais, são razões suficientes para a implementação deste parâmetro analítico na rotina dos laboratórios de classificação de leite.

A determinação de Azoto Ureico no Leite (AUL/MUN) é uma análise relativamente simples e vem sendo usada como ferramenta importante para monitorizar a eficiência com que a proteína da dieta é aproveitada pelo animal. Níveis de AUL/MUN muito

abaixo de 10 mg/dl(média) mostram, ou uma deficiência de proteína na dieta , ou uma alta eficiência no aproveitamento da proteína degradável no rúmen, com aproveitamento total de amónia à disposição das bactérias.

Níveis de MUN acima de 15 mg/dl podem indicar:

- 1) Excesso de proteína degradável na dieta (acima de 60 a 65% da proteína total) - seria o caso, por exemplo, do uso de ureia na dieta sem equilibrar com uma fonte adequada de glícidos rapidamente fermentáveis (proporcionando energia)
- 2) Deficit de glícidos rapidamente fermentáveis no rúmen, o que equivale a dizer que existe excesso de FDN/NDF (Fibra insolúvel em Detergente Neutro = Neutral Detergent Fiber) na dieta.

Nos Açores, onde a pastagem é a maior parte do ano muito tenra, pobre em fibra (rica em água), e rica em trevo, com excesso de proteína degradável, é de esperar, por estas duas razões em simultâneo, que os valores de AUL/MUN sejam superiores aos normalmente referidos na literatura para outros sistemas alimentares e níveis de produção.

Para elevadas produções de leite (>35 L/dia) sugere-se, que a PNDR/RUP não exceda 35 a 38% da proteína bruta total da dieta, pois o excesso de PNDR/RUP pode fazer diminuir o índice de proteína no leite e o volume de leite produzido, pelo facto de prejudicar a síntese de proteína microbiana no rúmen, pela falta de azoto para a síntese microbiana.

3- O azoto e o índice de Azoto Não Proteico no Leite

3.1- Metabolismo proteico dos Ruminantes

3.1.1- Relação Energia/ Proteína e utilização do azoto no Rúmen

Os carboidratos, ou glícidos, que são parte constituinte principal dos alimentos volumosos (pastos, silagens fenos), podem ser determinados pela análise da fibra em detergente neutro (FDN/NDF) sendo aquela constituída pela celulose, hemicelulose e lignina, e que representam os componentes de digestão lenta, insolúveis ou indigeríveis no rúmen do animal. Os carboidratos não-estruturais, presentes principalmente nos alimentos concentrados, são considerados de rápida digestão (ou glícidos de rápida fermentação no rúmen (Carboidratos Não Fibrosos - CNF/NFC) que incluem o amido, os açúcares e a pectina dos alimentos.

Parte da proteína bruta da dieta é reduzida pelos microrganismos do rúmen a peptídeos, aminoácidos e amónia, e constitui a chamada PDR/RDP (Proteína Degradável no Rúmen = Rumen Degradable Protein); a outra parte não sofre qualquer degradação no rúmen, é a PNDR/RUP (Proteína Não Degradável no Rúmen = Rumen Undegradable Protein) que passa para o intestino, denominando-se também como a proteína “by-pass” (proteína que passa para o intestino não sendo degradada no rúmen). Por exemplo, a ureia é um composto azotado não proteico que tem uma degradabilidade de 100% no rúmen. A maior parte da PDR/RDP é transformada em proteína microbiana, e esta, juntamente com a proteína “By-pass”(PNDR/RUP), fornece à glândula mamária os aminoácidos necessários para a síntese da proteína do leite. Uma parte da PDR/RDP, geralmente parte da amónia, pode não ser aproveitada para produzir proteína microbiana, sendo transformada em ureia no fígado e perdida na urina. Essa perda, dá-se, por duas razões, ou devido a um excesso de proteína na dieta (tanto da PDR/RDP quanto da PNDR/RUP) ou então devido à falta de energia na dieta na forma de CNF/NFC para funcionar como energia necessária à transformação da amónia proveniente da PDR/RDP em proteína microbiana.

O uso de quantidades elevadas de fertilizantes azotados nas explorações leiteiras, conduz a mudanças importantes nas características nutricionais das forragens, aumentando o conteúdo de azoto total (Proteína Bruta) e a sua fracção solúvel em vez

de proteína verdadeira (Correa e Cuéllar, 2004). Este facto origina um aumento exagerado do conteúdo de azoto degradável que aparece como amónia, a qual não chega a ser utilizado pela flora ruminal e passa com relativa facilidade para o corrente sanguínea, sendo posteriormente transformada no fígado em ureia e eliminada na urina e no leite.

Miller et al (1990) encontraram vários registos de vários investigadores revelando o decréscimo no Azoto Ureico no Plasma (AUP/PUN) nas vacas leiteiras quando um nível mais óptimo de carboidratos era fornecido para crescer à captura de Proteína Degradável Ingerida (PDI/DIP) pela síntese de proteína microbiana.

3.2 – A ureia como metabolito

3.2.1 - O ciclo da ureia

Os ruminantes absorvem o azoto principalmente como amónia pela parede do rúmen e aminoácidos e péptidos a nível do duodeno (Annison et al., 1999; Reynolds 1992; Wu 1998; citados por Correa e Cuéllar 2004). Por sua vez Annison et al. (1999) asseguram que em vacas lactantes de alta produção, que pastoreiam em pastos verdes frescos com alto conteúdo de proteína degradável e azoto não proteico, apresentam uma taxa muito alta de transformação de amónia ruminal em ureia. A amónia é um composto neurotóxico, observando-se um marcado dano cerebral naqueles casos em que os processos de eliminação falham (King, 2000; citado por Correa e Cuéllar, 2004). O fígado remove e desintoxica a amónia absorvida no tracto digestivo, transformando-a principalmente em ureia, a qual posteriormente é reciclada pela saliva ou pela parede ruminal, ou é eliminada pela urina e leite (Annison et al., 1999; Katz 1992; citados por Correa e Cuéllar, 2004)

Quando este ciclo se satura, a amónia toma outro via, a do glutamato e da glutamina, a qual pela corrente sanguínea chega até aos rins onde sofre um processo de desaminação libertando amónia que é finalmente eliminada na urina. Dado que a formação de glutamato e de glutamina se baseia na aminação do cetoglutarato, a disponibilidade deste cetoácido para participar tanto no ciclo de Krebs como na

gliconeogénese ver-se-ia reduzida, com o que estaria comprometida a possibilidade de se cobrir as exigências de glicose para o animal (Correia e Cuéllar, 2004) (Figura 4).

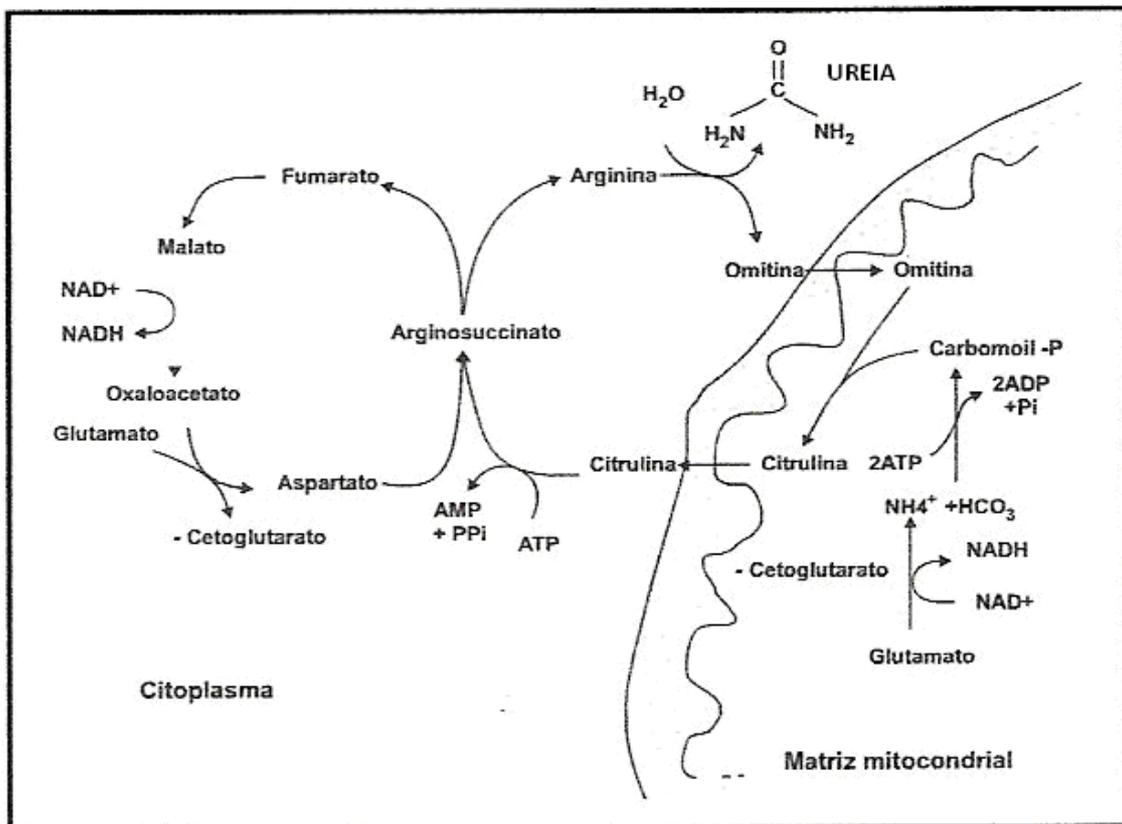


Figura 4 - Ciclo da ureia (adaptado de Maynard et al., 1979)

Por outro lado, o gasto de aminoácidos para a formação de aspartato, que participa no ciclo da ureia através de processos de transaminação, reduz a disponibilidade de aminoácidos para a síntese de proteínas, de tal maneira que, à medida que se aumenta o fluxo de amónia através deste ciclo, aumenta-se a necessidade de aspartato e reduz-se a disponibilidade de aminoácidos. Isto implica que perante as condições de alimentação expostas anteriormente, as necessidades de aminoácidos, principalmente a metionina, seriam muito maiores do que em outras condições (Correa e Cuéllar, 2004).

3.2.2 - Origem do azoto Ureico no Leite (AUL/MUN)

A ureia no leite aumenta devido à passagem da ureia do sangue para este (Clark, et al. 1978; citado por Roseler, 1993). A ingestão de azoto pelas vacas leiteiras reflecte-se na concentração de ureia no leite dentro de poucas horas. Cerca de 2 horas depois da ingestão, um aumento no nível de NH_3 é detectado no fluido ruminal (Brabander et al., 1999; van Vuren, 1994; van Vuren e Tamminga, 2001; citados por van Duinkerken, 2005). Depois disso, dentro de 1,5 a 2,0 horas, é encontrado um pico de concentração de ureia no sangue. Finalmente, a ureia no leite equilibra-se com o sangue dentro de um diferencial de tempo de 1 a 2 horas (Gustafsson e Palmquist, 1993). No total, a média de tempo entre a ingestão de azoto na dieta e o pico de ureia no leite é de cinco horas (van Duinkerken, 2005)

3.2.3 – O Azoto Ureico no Leite AUL como indicador de consumo de Proteína Bruta

A ureia equilibra-se rapidamente através dos fluidos corporais, incluindo no leite e a concentração de Azoto Ureico no Leite (AUL/MUN), reflecte a concentração de Azoto Ureico no Plasma (PUN) (Roseler et al 1993; citado por Broderick, et al. 1997), daí que a AUL/MUN sirva como indicador da utilização eficiente do azoto na vaca leiteira (Baker et al. 1995; citados por Broderick, et al. 1997).

Broderick et al. (1997) encontraram uma relação positiva entre o AUL/MUN e a Proteína Bruta da dieta ($r^2=0.839$), assim como (Nousiainen et al., 2004) consideraram no seu estudo a Proteína Bruta o melhor factor de previsão dos valores de MUN, com a proporção de 0,778 do total da variação entre os dois factores em estudo (Ver Figura 5), sendo neste caso a fórmula para a determinação do AUL/MUN a partir da Proteína Bruta da Dieta a seguinte: $\text{AUL/MUN mg/dl} = -14,2 + 0,17 \times \text{conteúdo de Proteína Bruta na dieta g/kg MS}$.

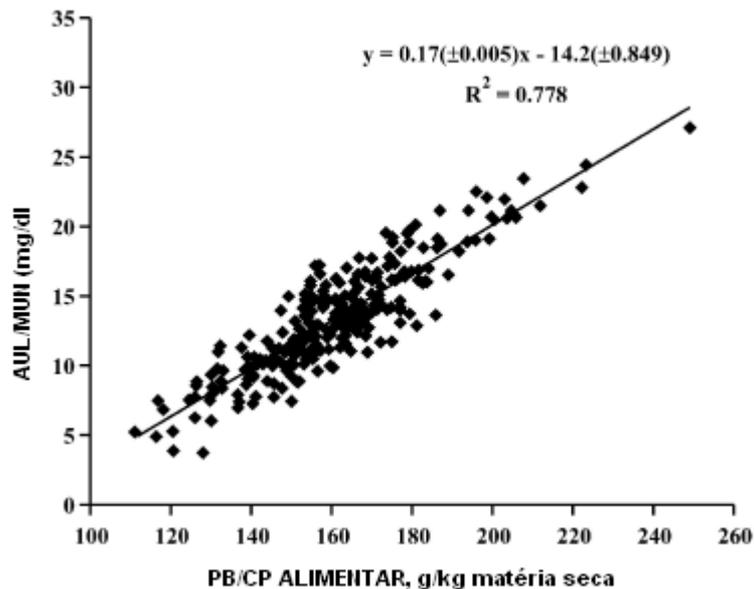


Figura 5. Associação entre o teor alimentar de PB/CP e o AUL/ MUN (n = 306) (Adaptado de Nousiainen et al. 2004)

3.2.4 Concentrações de Azoto Ureico no sangue

O AUL/MUN pode ser utilizado como uma ferramenta de trabalho para monitorizar o status proteico das vacas leiteiras. Quando a quantidade de energia na dieta dos ruminantes é a adequada tanto o AUP/PUN como o AUL/MUN são reconhecidos como indicadores do seu *status* proteico (Broderick et al., 1997; Garcia et al., 1997; Holf et al., 1997; Ide. et al. 1966; Jonker et al. 1998; Preston, 1965; Roseler et al. 1993; Thorton, 1970; citados por Jonker et al 1999).

Num modelo estudado por Jonker et al. (1999), usaram valores de ingestão de proteína e de produção de leite para prever as concentrações de Azoto Ureico no leite quando o gado era alimentado segundo as recomendações do NRC (National Research Council). Os valores alvo de AUL/MUN para uma lactação típica foram neste caso de 10 a 16 mg/dl, dependendo dos dias de lactação.

Num estudo de Butler et al. (1996) registaram-se concentrações de AUL/MUN e AUP/PUN superiores a 19 mg/dl que foram associadas com baixa taxa de fertilidade. A concentração média naquele estudo foi contudo de $22,3 \pm 4$ mg /dl, valores que se apresentam mais elevados do que geralmente se registam e são aceites (10 a 14 mg/dl), (Moore e Varga, 1996); (10 a 16 mg/dl), Jonker et al., 1999)

O AUL/MUN é uma consequência dos níveis do Azoto Ureico no Sangue (AUS/BUN = Blood Urea Nitrogen, não sendo de estranhar por isso os bons níveis de correlação entre estes dois parâmetros de análise (Ver Figura 6) encontrado pelos mais diversos autores. Este facto faz também da análise do AUL mais interessante e mais barata dada a facilidade na recolha das amostras.

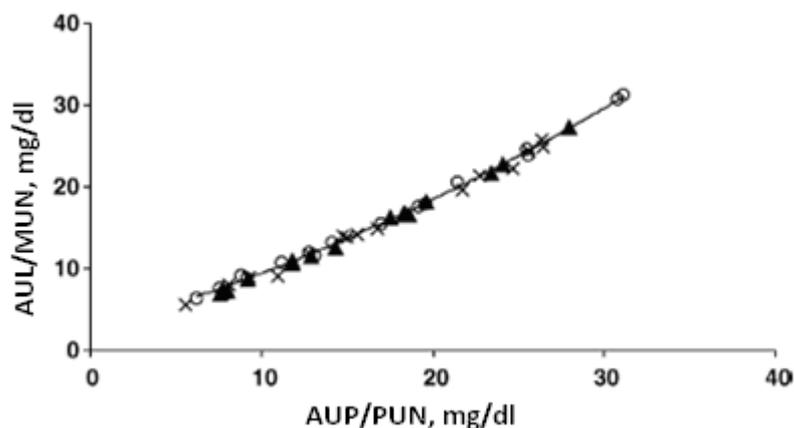


Figura 6. AUL/MUN vs. Azoto Ureico no Plasma (AUP/PUN) em vacas em início (O), meio (x), e fim de lactação (▲). A linha a cheio representa a equação de regressão $[AUL/MUN = 2.29 (\pm 0.55) + 0.61 (\pm 0.07) \times AUP/PUN + 0.01 (\pm 0.002) \times AUP/PUN^2; R^2 = 0.99]$. (Adaptado de Burgos et al., 2007)

3.3 - Factores de variação do Azoto Ureico no Leite

3.3.1. – Alimentação

Azoto ureico no leite elevado e produção de leite reduzida podem em conjunto resultar de um balanço impróprio entre Proteína Degradável no Rúmen (PDR/RDP) e Proteína não Degradável no Rúmen (PNDR/RUP). O excesso de degradação de proteína no rúmen (altos níveis de PDR/RDP comparando com os níveis requeridos) podem levar a concentrações elevadas de Azoto Ureico no Leite (AUL/MUN) (Broderick, et al. 1997; citado por Jonker, 1999). Contudo, o excesso de proteína não degradável, *per se*, em comparação com os valores requeridos podem também resultar no aumento do azoto ureico no leite (AUL/MUN) (Broderick, et al. 1997; citado por Jonker, 1999). Um balanço apropriado das fracções proteicas podem reduzir o Azoto Ureico no Leite e aumentar a produção de leite.

Alguns autores, Broderick et al. (1997), Oltner et al. (1985), e Oltner (1983), sugeriram que o efeito da produção de leite no azoto ureico no leite é causado pela estreita correlação entre a produção e a proporção entre a proteína e a energia (EM/ME ou NEL) na ração.

Vacas em manadas altamente produtoras com valores de AUL/MUN baixos estão muito provavelmente a utilizar a proteína muito eficientemente (Rajala-Schulz et al. 2002). A observação destes autores, em manadas com mais de 11.000 kg de produção, com valores de AUL/MUN entre 10 e 11 mg/dl, sugerem que é possível atingir altos níveis de produção e ter valores relativamente baixos de ureia no leite. Este facto, sugere que em muitas manadas, monitorizando-se a concentração de Azoto Ureico no Leite e realizando-se mudanças apropriadas na composição das rações, pode-se criar uma oportunidade para melhorar a eficiência na alimentação, o que pode, potencialmente, ser uma oportunidade para reduzir os custos com a alimentação e melhorar os ganhos económicos.

3.3.2 - Produção de Leite

Assim como a produção de leite aumenta, quando as vacas são alimentadas com as regras recomendadas pelo NRC (National Research Council), as concentrações previstas de AUL/MUN aumentam linearmente por causa da elevada ingestão de azoto (IA/NI) e conseqüente aumento da excreção de azoto (Jonker, et al. 1999), conseqüentemente as concentrações alvo de AUL/MUN são extremamente sensíveis às mudanças na produção de leite (Ver Figura 7).

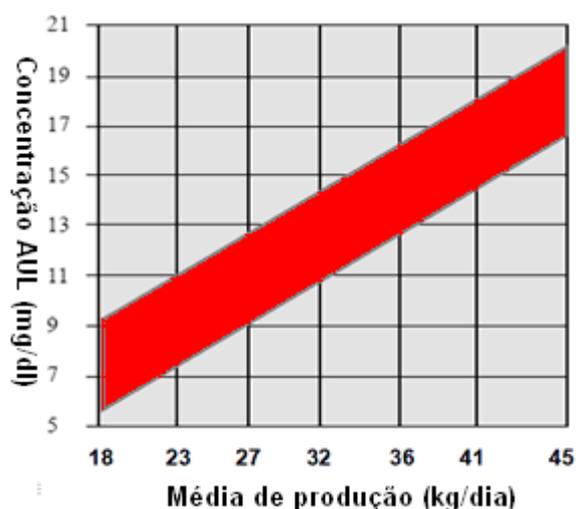


Figura 7. Variação da concentração de AUL/MUN em função do nível de produção (adaptado de Jonker et al., 1999).

Do estudo de Roseler et al. (1993) conclui-se que ingestões diferentes de Proteína Degradável e de Proteína não Degradável influenciam de modo diverso a produção de leite, sendo esta sensível à proporção de cada uma daquelas na composição da dieta.

3.3.3 - Fase de lactação

Num estudo realizado no Estado de Ohio (EUA), da autoria de Rajala, et al. (2002), as concentrações de AUL/MUN foram mais baixas nos primeiros meses de lactação. Esta observação encontra-se em conformidade com vários outros estudos (Carlsson et al., 1995; Eicher et al., 1999; Godden et al., 2001; citados por Rajala, et al 2002).

No entanto Schepers e Meijer (1998), não encontraram qualquer associação entre os valores de AUL/MUN e o estágio de lactação em experiências que estes controlaram os factores nutricionais.

Naquele estudo, no Ohio, após o primeiro mês de lactação, a concentração do AUL/MUN aumentava, até aos dois três meses, coincidindo com o pico da curva de lactação. Como se sabe as vacas de alta produção têm dificuldade em preencher as suas necessidades energéticas no período de transição, estando em balanço energético negativo no início da lactação (Carlsson et al., 1995; Butler, 2000; de Vries e Veerkamp, 2000; citados por Rajala, et al. 2002).

Concentrações baixas de AUL/MUN no princípio da lactação podem estar relacionadas com a incapacidade das vacas ingerirem quantidades suficientes de alimento, o que poderá resultar num funcionamento sub-ótimo da flora ruminal (Carlsson et al.; 1995; citados por Rajala, et al. 2002).

3.3.4 - O peso vivo -Genética

Num estudo de Jonker, (1998b) estes autores chegaram à conclusão que o peso corporal tinha uma correlação negativa com a concentração de Azoto Ureico no Leite nas vacas leiteiras, facto que é também consistente com uma investigação anterior de Oltner, et al. 1985. Quando a mesma quantidade de ureia se forma no fígado, um animal grande tem uma maior volémia do que um animal mais pequeno, daí que apareçam concentrações de ureia mais baixas tanto no sangue como no leite, para a mesma quantidade total de ureia em animais de maior porte, pelo simples efeito de diluição, referem Oltner, et al. (1985).

4 - Influência do nível de ureia na reprodução

Existem vários estudos que evidenciam a baixa fertilidade nas vacas leiteiras devido à elevada taxa de presença de ureia no sangue. Num estudo de Butler, et al. (1996) estes autores evidenciam que concentrações de AUL/MUN e AUS/BUN mais elevadas que 19 mg/dl estavam associadas com a baixa de taxas de concepção conseguidas. A média de concentração de AUL/MUN neste estudo era contudo de 22.3±4 mg/dl, enquanto que valores aceitáveis deveriam ser de 10 a 14 mg/dl segundo Moore e Varga,(1996); 10 a 16 mg/dl, segundo Jonker et al., (1998), citados por Butler et al. 1996. Também Fergusson e Chalupa (1989) evidenciam que a concentração de Azoto Ureico no Sangue AUS/BUN, excedendo 20 mg/dl, estaria associada com a redução das taxas de concepção em vacas leiteiras. No estudo de Larson et al. (1997), vacas com valores de AUL/ MUN maiores do que 21 mg/dl teriam uma maior probabilidade voltar ao estro ao 21º dia, e assim que os valores de MUN se elevavam, as vacas evidenciavam a tendência em não ficarem prenhas.

No estudo de Rajala Schulz et al. (2002) vacas com valores mais altos do que 15,4 mg/dl tinham uma menor probabilidade de ficarem prenhas do que vacas com níveis de AUL/MUN menores do que 15,4 mg/dl. De facto, vacas com níveis de AUL/MUN inferiores a 10 mg/dl antes da concepção tinham uma probabilidade 2,4 vezes maior de ficarem prenhas do que vacas com níveis de AUL/MUN superiores a 15,4 mg/dl. Em muitos destes estudos, as vacas foram somente divididas em dois grupos baseados nos valores de AUL/MUN ou AUS/BUN o que talvez explique parcialmente o facto de a associação entre valores elevados de AUL/MUN e a fertilidade só se verificarem a níveis relativamente elevados.

Elrod e Butler (1993a) e Elrod et al. (1993b) evidenciaram que uma dieta com teores elevados de proteína fazia decrescer o pH uterino durante a fase lútea, facto que pode justificar a baixa taxa de fertilidade. Larson et al. (1997) sugeriram que valores elevados de AUL/MUN na altura da concepção possam estar associados com a falha na fertilização ou em percas embrionárias muito precoces antes sequer de ser reconhecido o diagnóstico de gestação do animal

No estudo de Rajala-Schulz et al. (2002), em manadas de alta produção leiteira, os valores de AUL/MUN eram mais elevados do que nas manadas menos produtoras. Contudo em ambos os grupos as vacas com concentrações de AUL/MUN no quartil mais baixo tinham uma maior probabilidade (duas vezes mais prováveis) de conceberem do que as vacas no quartil de AUL/MUN mais elevado, sugerindo uma associação negativa com a elevação dos valores de AUL/MUN achados e a taxa de fertilidade, apesar da produção leiteira. Acrescendo a isto as vacas no 2º quartil de valores de AUL/MUN mais baixos eram significativamente mais prováveis de serem confirmados prenhas do que as vacas com os valores de AUL/MUN mais elevados. Em conclusão, os resultados deste estudo de Rajala Schulz et al. (2002) indicam que o aumento dos valores de AUL/MUN parecem estar negativamente associados com a fertilidade das vacas leiteiras embora os resultados deste estudo sugiram também que os níveis de AUL/MUN óptimos para a taxa de fertilidade serão menos elevados do que outros registados noutros estudos anteriores a este, acima mencionados.

Num estudo de Melendez, et al. (1999) concluiu-se que vacas expostas a valores altos de AUL/MUN (>16mg/dl), 0 a 30 dias antes do primeiro serviço e inseminadas durante os meses de Verão, estariam em maior risco de não ficarem prenhes do que aquelas com baixo AUL/MUN e inseminadas durante o Inverno. Neste estudo não se encontrou no entanto associação entre AUL/MUN e a gravidez por si só.

Num estudo de Godden et al. (2001c) encontrou-se uma relação negativa curvilínea entre AUL/MUN e a probabilidade de gestação a partir de uma inseminação ocorrendo dentro dos 45 dias depois do dia de teste, com a probabilidade de ser maior quando o AUL/MUN no dia do teste antes da inseminação era igual ou inferior a 4,5 mmol/L (12,62 mg/dl), ou superior a 6,49 mmol/L (18,20 mg/dl). Estes resultados juntam-se a um grande grupo de investigadores que registam resultados variados e conflituosos quanto à natureza da relação entre a concentração de AUL/MUN e a fertilidade em vacas. Daqui se infere que os valores de AUL/MUN possam ser úteis como uma ferramenta de gestão para melhorar a eficiência ou reduzir o custo de produção, ou ainda para reduzir a excreção de azoto para o ambiente mas seja discutível terem utilização como ferramenta de diagnóstico, ou de monitorização, da performance reprodutiva dos rebanhos leiteiros.

5 - A ureia e o ambiente

Os efluentes pecuários contêm nutrientes que têm sido motivo de preocupação crescente nos últimos tempos, tanto na contaminação dos solos, como no das águas superficiais assim como na relação com os gases com efeito estufa. Os compostos orgânicos constituem motivo de preocupação para a contaminação das águas através da lixiviação do ião nitrato e do fósforo, assim como devido à sua elevada carga orgânica. A volatilização do ião amoníaco NH_3 , assim como o metano CH_4 e o óxido hiponitroso N_2O libertado, constituem preocupação como gases com efeito de estufa.

As explorações de bovinicultura leiteira produzem basicamente três tipos de efluentes: o chorume e estrumes, e as águas sujas. Os estrumes são constituídos pelas fezes, urina e quantidades significativas de material utilizado para a cama dos animais (cerca de 25% MS)(Bicudo e Ribeiro, 1996; citado por Pereira, 2005). As características destes

efluentes dependem do tipo de instalação e do modo como os animais são criados, do tipo de material utilizado nas camas, do processo de remoção dos dejectos das instalações (raspagem ou lavagem), das quantidades de água utilizadas nas operações de limpeza e sobretudo da composição da dieta alimentar dos animais explorados (Pereira, 2005). Várias medidas, ou estratégias, têm sido propostas com vista à optimização da utilização dos nutrientes dos dejectos animais na produção vegetal e / ou diminuição dos prejuízos ambientais a eles associados. Exemplos dessas medidas passam pela formulação de dietas alimentares mais apropriadas para os animais, diminuição do encabeçamento, aumento da produtividade por animal e, novas soluções no desenho e concepção das instalações pecuárias, pré-tratamento do chorume, em vez do espalhamento sistemático e sem qualquer critério do mesmo, utilização integrada do chorume e da fertilização mineral das culturas, metodologias com menor impacto ambiental na aplicação de chorume aos solos e alteração dos sistemas culturais. Devido à crescente tendência para a pecuária intensiva, deve-se pensar na implementação de sistemas de gestão dos efluentes produzidos nas explorações. É pois fundamental para que o sistema agrário se torne sustentável e, por outro lado, para corrigir problemas que possam prejudicar o ambiente, nomeadamente a lixiviação do ião nitrato para os lençóis freáticos e emissões de N_2O e NH_3 para a atmosfera (Trindade, 1997) (Figura 8).

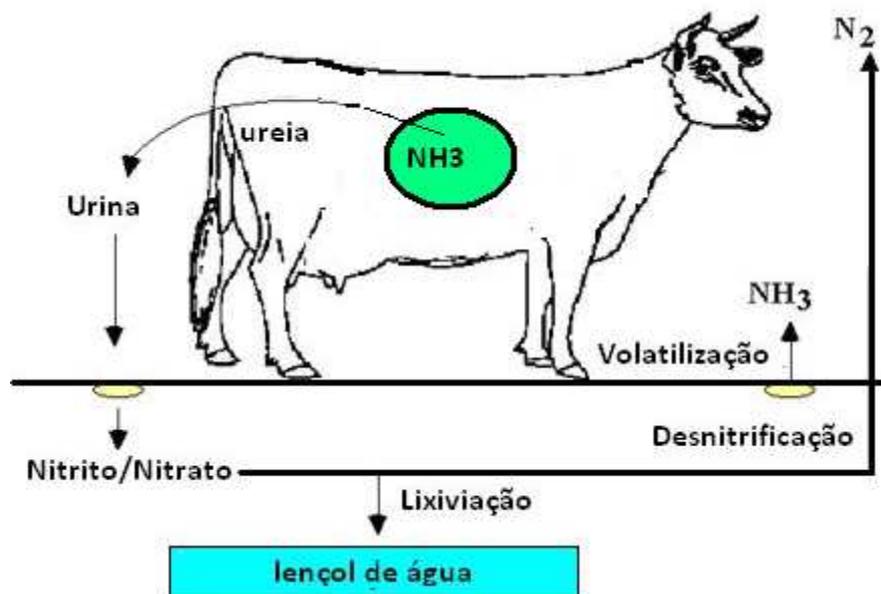


Figura 8. Destino do azoto no meio ambiente

A quantidade de águas sujas produzidas numa exploração leiteira é função, principalmente, dos níveis de precipitação e do regime e do tipo de lavagens realizadas nas salas de ordenha e nos parques de alimentação. A contribuição das águas pluviais pode ser importante sobretudo nos meses de inverno, ou em condições de elevada precipitação, como no caso dos Açores, pelo que se deve limitar, tanto quanto possível, a afluência destas águas aos parques ao ar livre, pela instalação de sistemas de recolha e de drenagem das águas pluviais nas instalações pecuárias, usando algerozes por exemplo, caleiras e ramais de descarga, o que pode contribuir para uma redução significativa do volume de águas sujas produzidas na exploração. A separação de sistemas de recolha e drenagem de águas sujas e pluviais constitui uma boa prática de gestão dos efluentes. Nas grandes explorações pode-se chegar a justificar a construção de um fosso de retenção destas águas sujas, já nas explorações pequenas, as águas sujas costumam ser recolhidas junto com os estrumes. Caso seja efectuada a recirculação destes efluentes, é possível diminuir os volumes de água envolvida .

5.1 – O Azoto Ureico no Leite (AUL/MUN) como indicador de impacto ambiental na exploração pecuária.

A sobrecarga de nutrientes nos lençóis freáticos e águas superficiais é o maior problema associado ao ambiente que se nos depara ao estudarmos a problemática do AUL/MUN. Nos Açores as captações subterrâneas de água constituem a quase generalidade das origens de água para consumo humano (Plano Regional da Água, D.L.R nº19/2003/A).

A pecuária é a principal actividade em todas as ilhas dos Açores, daí que esta represente o maior contribuinte em termos de carga de azoto nos solos e águas superficiais anexas às explorações. Os estrumes aplicados em regra assim como a sobre-adubação das terras para as culturas de milho, da pastagem, ou de outras culturas, são lixiviados, ou volatilizam-se, mesmo quando se aplicam os adubos com regra (Pereira, 2005). Daí que seja importante que se procure reduzir a perda desnecessária de nutrientes, requerendo uma melhor formulação das dietas e o manejo geral dos rebanhos por forma a minimizar-se o seu impacto ambiental.

O azoto ureico no leite deveria poder ser utilizado como uma ferramenta de gestão para se melhorar os vários estádios nutritivos das vacas leiteiras. Valores elevados de Azoto Ureico no Leite indicam excesso de proteína na alimentação da vaca leiteira para um determinado estado de produção leiteira (Broderick e Clayton, 1997; Jonker et al., 1998) identificando a carga de nutriente desperdiçado para os recursos de água, uma vez que estes valores correspondem a um equivalente de azoto que é excretado na urina destes animais (Ver Figura 9).

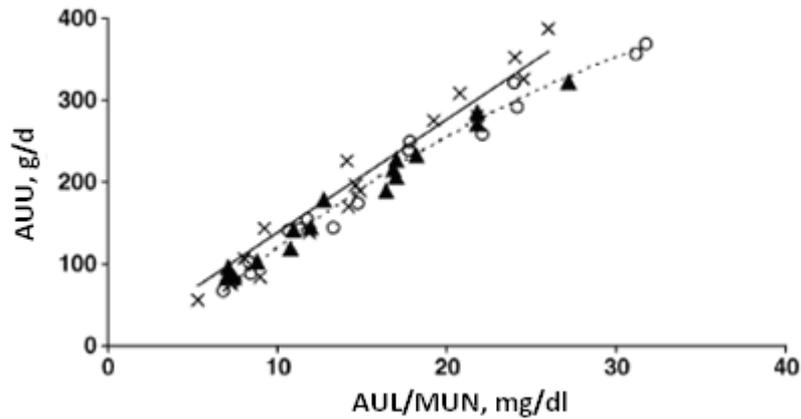


Figura 9. Excreção de Azoto Ureico Urinário (AUU) vs. Azoto Ureico no Leite (AUL/MUN). A linha contínua representa a equação de regressão para vacas em meia lactação (x) [AUU = -37.33 (±11.62) + 16.01 (±0.48) × AUL/MUN; R2 = 0.99]. A linha a ponteados representa a equação de regressão para vacas em início e fim de lactação [AUU = -49.95 (±21.18) + 18.67 (±2.58) × AUL/MUN - 0.17 (±0.07) × AUL/MUN²; R2 = 0.97]. (Adaptado de Burgos et al., 2007)

A ureia representa a maioria dos compostos contendo azoto na urina do gado, contabilizando 50 a 90 % do azoto da urina, e tem o maior potencial para a volatilização da amónia NH₃ (Bussink e Oenema, 1998; citado por Burgos et al. 2007). De acordo com isto, a ureia excretada na urina está associada com a emissão de NH₃ com origem nos excrementos do gado (James et al., 1999; citado por Burgos et al. 2007) e pode ser utilizado para estabelecer estimativas razoáveis para o potencial de emissão de NH₃ (Cassel et al., 2005; citado por Burgos et al. 2007).

A relação linear entre AUL/MUN e a excreção de azoto na urina deriva da observação de que a quantidade de azoto excretado por uma vaca na urina será proporcional à concentração de ureia no sangue, que por sua vez, seria proporcional à concentração de ureia no leite, como vimos anteriormente (Jonker et al., 1998; citado por Burgos et al. 2007).

Num estudo realizado nos E.U.A., no Estado de Maryland, um conjunto de produtores de leite participou num teste mensal de AUL/MUN conseguindo-se um decréscimo relativo nos seus valores (em 0,52 mg/dl), desde o princípio do estudo até ao seu *terminus*, comparado com outros lavradores que não participaram. Assumindo que não houve variação na produção leiteira e tendo sido os rebanhos alimentados segundo as recomendações do NRC (National Research Council), esta ligeira mudança

nos valores do AUL/MUN reflecte uma descida média de 9,2 g/ dia no azoto urinário e 1,9 g/dia no azoto fecal das vacas leiteiras, segundo o modelo de Jonker et al. (1998), modificado por Kauffman e St-Pierre (2001). Assumindo 305 dias de lactação, a média de decréscimo de excreção de Azoto terá sido neste caso de 3.4 kg/vaca/ano. O tamanho médio das manadas era de 109 vacas e 454 lavradores participaram neste estudo, daí que se tenha concluído que o estudo ajudou a descer o Azoto excretado nestas explorações em 168 toneladas/ano ($3,4 \times 109 \times 454 / 1000$) para as 49.486 vacas envolvidas. Se, por hipótese, 75 % deste azoto estivesse destinado a poluir os recursos de água, então 126 toneladas/ano de azoto não chegaram a contaminar os recursos de águas superficiais, o que é muito significativo em termos de diminuição do impacto ambiental.

Melhorias na utilização eficiente de azoto pelos animais domésticos fazem decrescer as perdas de azoto a partir das explorações (Kohn et al., 1997). A maioria do azoto contido nos estrumes aplicados nos pastos são subsequentemente perdidos para os recursos aquíferos mesmo quando se usam as melhores práticas de aplicação destes. Daí que seja importante reduzir-se o impacto ambiental do azoto, através do melhor aproveitamento da utilização do azoto pelo animal, melhorando a eficiência na utilização do azoto nas culturas forrageiras e fazendo decrescer as perdas de azoto na pecuária. Estes dados são de particular relevância no caso dos Açores dado o sistema de produção, o pastoreio bastante intenso, a orografia da pastagem e a elevada pluviosidade.

6 – Principais processos de ganhos e fluxos de perda de azoto no solo

6.1 - Mobilização e Imobilização

No solo, o azoto encontra-se imobilizado no húmus, na malha estrutural das argilas e na matéria orgânica resultante da presença dos resíduos da actividade dos seres vivos, e numa forma solúvel constituída principalmente pelos iões amónia, nitrito e nitrato (Bonneau et al., 1987; citado por Lobo, 1993) (Ver Ciclo do Azoto na Figura 10).

O processo de mobilização ou mineralização, que consiste na transformação do azoto imobilizado, no solo ou na água, em nitratos, envolve duas fases: Amonificação e Nitrificação

A transformação de compostos orgânicos contendo N, nas formas inorgânicas NH_4^+ ou NH_3 , com a libertação simultânea de CO_2 , designa-se mineralização. Ao processo inverso, em que compostos inorgânicos de N (preferencialmente NH_4^+ e NH_3 , mas também, NO_3^- e NO_2^-) são incorporados em compostos orgânicos, chamamos imobilização (Trindade, 1997).

A amonificação produz-se por acção hidrolítica, química ou enzimática, sobre os compostos que contêm azoto imobilizado, transformando-os em amónia. A acção enzimática é exercida por bactérias anaeróbias e fungos do solo e da água. (Lehninger, 1981; citado por Lobo. 1993).

Em solos com potencial redox reduzido, o NH_4^+ formado no processo de mineralização é rapidamente oxidado a NO_3^- . Esta conversão é mediada principalmente por bactérias autotróficas pertencentes a dois géneros: *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*. As primeiras oxidam NH_4^+ a NO_2^- , e as segundas, NH_4^+ a NO_3^- (Schmidt, 1982; citado por Trindade 1997).

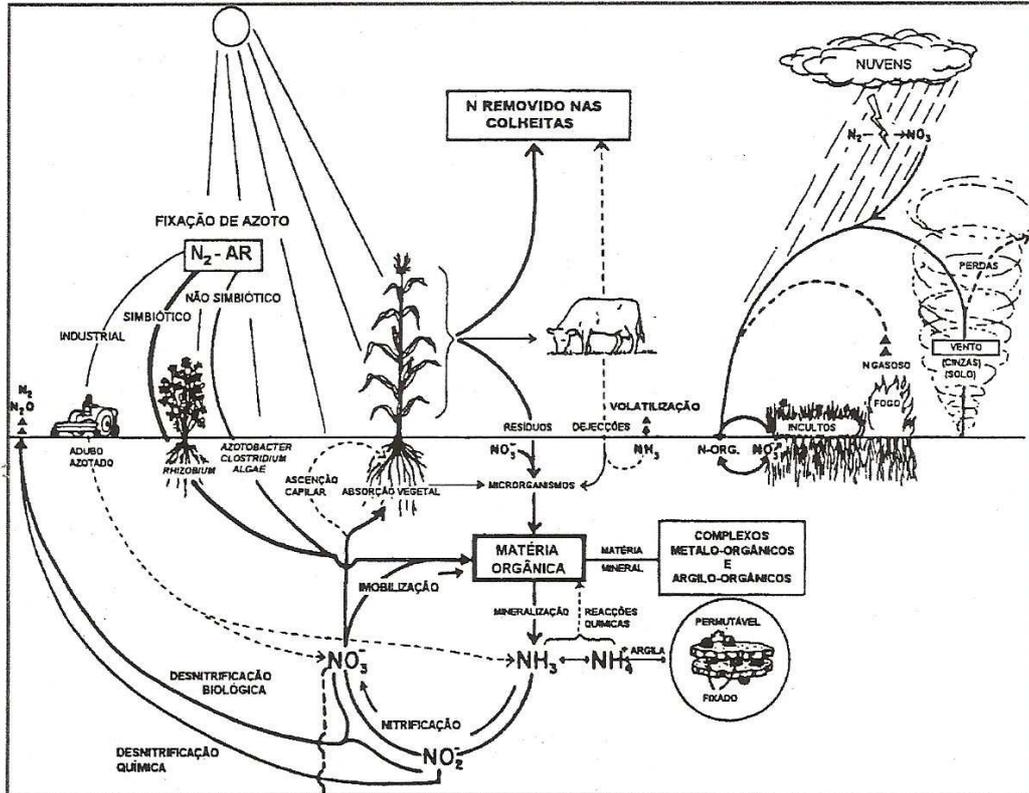


Figura 10- O ciclo do azoto (adaptado de Stevenson,1986; citado por Trindade 1997)

6.2 - Desnitrificação

No solo e na água, os nitratos não assimilados pelos organismos vivos transformam-se em azoto molecular por intermédio da desnitrificação (Seitzinger, 1987; citado por Trindade 1997)

Embora as estimativas variem acentuadamente, as perdas de azoto dos solos agrícolas por desnitrificação podem representar uma proporção considerável do azoto aplicado através de fertilizantes (Trindade 1997).

6.3 - Fixação do azoto

A presença de azoto, na forma molecular, na atmosfera, é uma fonte inesgotável deste elemento, que é aproveitada pelos organismos vivos por intermédio de microrganismos autotróficos fotossintéticos, fixadores de azoto (Morel, 1983; citado por Lobo, 1997). Este processo é da maior importância na substituição do azoto

imobilizado no solo, retirado durante as colheitas (Lobo, 1993). Esta fixação é efectuada por dois processos (Bonneau, 1987; Williams, 1987; citados por Lobo, 1993):

- Fixação simbiótica (bactérias do género *Rhizobium*)
- Fixação não simbiótica (bactérias do género *Azotobacter* e outras)

6.4 - Principais fluxos de perda de azoto

Nos solos agrícolas, uma adição importante de azoto ocorre através da aplicação de adubos azotados fabricados por fixação industrial de N_2 atmosférico.

As principais adições naturais de azoto ao solo ocorrem pela fixação molecular do N_2 e pela adição de NH_3 , NO_3^- e NO_2^- na água da chuva.

A queima de resíduos sólidos, contendo compostos de azoto, e a desnitrificação, são as causas do aparecimento de óxidos de azoto na atmosfera. Na atmosfera estes óxidos são transformados em ácido nítrico contribuindo para o aparecimento de chuvas ácidas (Lobo, 1993)

Os processos de volatilização de amoníaco, de lixiviação do ião nitrato, de desnitrificação e as produções vegetais, representam as principais saídas de azoto dos solos agrícolas (Trindade, 1997).

6.4.1 - Lixiviação do ião nitrato

O ião nitrato (NO_3^-) proveniente da mineralização de matéria orgânica do solo e de resíduos animais e vegetais, ou adicionado por fertilizantes e, em menor quantidade, por deposição atmosférica, sofre lixiviação (arrastamento por lavagem) quando a água da chuva ou de rega se infiltra e atravessa o perfil do solo (Trindade, 1997).

Em alguns solos a presença de fendas ou canais verticais (macroporos) pode facilitar a infiltração rápida da água entre a superfície e camadas profundas do solo. Se houver grandes quantidades de azoto nítrico à superfície do solo, como sucede após a

aplicação de um fertilizante em cobertura, então a água que se infiltra terá elevada concentração de ião nitrato e ocorrerá lixiviação, em maior extensão do que a prevista pelo movimento de solutos por convecção, difusão e dispersão hidrodinâmica (Cameron e Haynes , 1986; citados por Trindade 1997).

6.4.2 - Perda de azoto gasoso

A volatilização de amoníaco (NH_3) é uma transferência de massa de NH_3 gasoso da solução do solo (ou materiais orgânicos) para a camada de ar em contacto com a superfície de solo, governada pela diferença de pressão parcial de NH_3 gasoso entre a solução do solo da camada mais superficial e o ar (Koeliker e Kissel, 1988; citados por Trindade, 1997). A quantidade de amoníaco volatilizada após a adição de fertilizantes minerais ou orgânicos ao solo é função do reajuste de uma série de equilíbrios entre as diferentes formas de azoto amoniacal presentes no sistema solo-atmosfera (Haynes e Sherlock 1986; citados por Trindade, 1997)

6.4.3 - Fertilização deficiente

Uma fertilização com especial incidência na Primavera e Verão, respectivamente durante a época das adubações e durante as colheitas origina, devido ao processo da percolação, o aparecimento de elevadas concentrações de nitratos na hidrosfera. Uma tentativa de solução deste problema é o uso de inibidores de nitrificação que funcionam como tóxicos para os microrganismos que transformam o amoníaco em nitritos (Yufero 1981; citado por Lobo 1993).

7 - Legislação Ambiental

7.1 – Protecção dos Lençóis de Água

O Decreto-Lei nº 235/97 transpõe para o direito nacional a Directiva Comunitária nº 91/676/CC, conhecida como sendo a “Directiva dos Nitratos”, do Conselho de 12 de Dezembro de 1991, que diz respeito à protecção das águas contra a poluição causada por nitratos de origem agrícola. Esta directiva originou a elaboração do “Código de Boas Práticas Agrícolas”, a delimitação das Zonas Vulneráveis e a criação dos respectivos “Programas de Acção”. Para além desta directiva a Directiva-Quadro no domínio da água (DQA), adoptada em 2000, estabelece as bases da política da água, para a União Europeia. Um dos grandes objectivos desta política é a de obter, até 2015, uma boa qualidade para todas as águas na EU: No entanto tem sido vários os países da UE que nos últimos anos conseguiram derrogações desta directiva, para certas zonas ou certos tipos de explorações agrícolas bem como tem sido preocupante o respeito por estas Directivas dado que, em muitas regiões, os níveis de nitratos na água tem estado a aumentar, especialmente em regiões de elevada densidade de gado, requerendo o encerramento ou tratamento das fontes de água potável.

No artigo 2º da “Directiva dos Nitratos” onde se definem os objectivos diz: *“São objectivos do presente diploma a redução da poluição das águas causada ou induzida por nitratos de origem agrícola, bem como impedir a propagação desta poluição.”*

No artigo 5º determina que: *“Compete às direcções regionais do ambiente e recursos naturais (DRARN) sob a coordenação do INAG e em concertação com os DRA e outras entidades com competência técnica específica para o efeito e capacidade laboratorial disponível, realizar um programa de controlo da concentração de nitratos nas águas doces superficiais e subterrâneas e uma avaliação do estado trófico das lagoas, outras massas de água doce, estuários e águas costeiras”.*

O ponto 1 do artigo 6º *“A fim de assegurar um nível geral de protecção de todas as águas a poluição causada ou induzida por nitratos de origem agrícola, será aprovado um Código de Boas Práticas pelos Ministros da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas e do Ambiente.”*

No ponto 3 do mesmo artigo: *“Compete aos serviços dependentes dos Ministérios da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas e do Ambiente, desenvolver, concertadamente, programas de formação e informação aos agricultores, visando promover a aplicação do Código de Boas Práticas Agrícolas”*

O artigo 7º desenvolve um Programa de Acção *“ 1- Para a prossecução dos objectivos mencionados no artigo 2º serão aprovados, por Portaria do Ministro da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas, programas de acção a aplicar às zonas qualificadas como vulneráveis nos termos do artigo 4º, tendo em conta os dados científicos e técnicos disponíveis bem como as condições do ambiente, em particular as edafo-climáticas, nas diferentes regiões”*

NO ANEXO I deste diploma estabelecem-se os Critérios de Identificação das Águas Poluídas por Nitratos:

1- *“As águas poluídas em risco de serem poluídas por nitratos de origem agrícola devem ser identificadas mediante a aplicação, entre outros, dos seguintes critérios:*

A) *Águas doces superficiais utilizadas ou destinadas à produção de água para consumo humano que contenham ou apresentem risco de vir a conter uma concentração de nitratos superior a 50 mg/l, se não forem tomadas as medidas previstas no artigo 7º.*

B) *Águas subterrâneas que contenham ou apresentem risco de conter uma concentração de nitratos superior a 50 mg/l, se não forem tomadas as medidas previstas no artigo 7º*

C) *Lagoas, outras massas de água doce, estuários e águas costeiras que se revelam eutróficas ou se possam tornar eutróficas a curto prazo, se não forem tomadas as medidas previstas no Artigo 7º*

2 – *Na aplicação destes critérios, deverá ainda atender-se:*

a) *Às características físicas e ambientais das águas e dos solos;*

b) *Aos conhecimentos disponíveis quanto ao comportamento dos compostos de azoto no ambiente (águas e solos);*

b) *Aos conhecimentos disponíveis quanto ao comportamento dos compostos de azoto no ambiente (águas e solos)*

c) *Aos conhecimentos disponíveis acerca do impacte das acções empreendidas nos termos do artigo 7º,*

d) *À caracterização das actividades humanas nas áreas envolventes”*

No ANEXO IV estabelecem-se Medidas a incluir no Programa de Acção nos termos do nº 3 do artigo 7º

1- *“As medidas deverão incluir regras relativas:*

1.1 – *Aos períodos em que é proibida a aplicação às terras de determinados tipos de fertilizante;*

1.2 – *À capacidade dos depósitos de estrume animal; a capacidade destes depósitos deve exceder a necessária para a armazenagem do estrume durante o período mais prolongado em que não é permitida a aplicação de estrume animal às terras situadas nas zonas vulneráveis, excepto quando possa ser demonstrado que a quantidade de estrume que exceda a capacidade real de armazenamento será eliminada de modo que não prejudique o ambiente;*

1.3 *Às doses máximas permissíveis de aplicação de fertilizantes aos solos, compatíveis com a boa prática agrícola e tendo em conta as características da zona vulnerável em questão, em especial:*

a) *As condições do solo, tipo de solo e declive*

b) *As condições climáticas e, nomeadamente, a pluviosidade e a irrigação;*

c) *A utilização do solo e as práticas agrícolas, incluindo sistemas de rotação de culturas, e deve basear-se no equilíbrio entre:*

i) *As necessidades previsíveis de azoto para as culturas; e*

ii) *O fornecimento de azoto às culturas a partir do solo e de fertilizantes correspondente:*

À quantidade de azoto presente no solo no momento em que começa a ser significativamente usado pelas culturas (quantidades consideráveis no final do Inverno)

Ao fornecimento de azoto através da mineralização líquida das reservas de azoto orgânico no solo

Ao azoto proveniente de estrume animal

Ao azoto proveniente de fertilizantes químicos e outros.”

7.2 - Código de Boas Práticas Agrícolas

Na introdução do Código de Boas Práticas refere-se o seguinte “ *à agricultura cabe um papel fundamental na produção de alimentos e de outros bens indispensáveis à vida e ao bem estar de uma população mundial que, em ritmo explosivo de crescimento demográfico, mais que quadruplicou ao longo deste século. O recurso à produção intensiva de alimentos, quer de natureza vegetal, quer de natureza animal, conduzem muitas regiões ao uso maciço de adubos químicos, de pesticidas e de outros factores de produção e à criação de grande número de animais em recintos limitados (pecuária sem terra)*”.

Na introdução deste código refere-se também a importância de melhores práticas na gestão dos nutrientes azotados, os principais constituintes dos fertilizantes : “ *a redução das perdas de nitratos do solo arrastados pelas águas de escoamento superficial e ou pelas águas de infiltração, para além da diminuição da poluição das águas superficiais e das águas subterrâneas, contribui, também, para um melhor aproveitamento do azoto pelas culturas e para o aumento das suas produções, concorrendo, assim, para uma rentabilidade económica mais elevada do uso dos fertilizantes e de outros factores de produção.*”

No ANEXO III do Dec.Lei 235/97 de 3 de Setembro de 1997, estabelecem-se os termos para a constituição de um Código de Boas Práticas Agrícolas:

A- “Um Código de Boas Práticas agrícolas cujo objectivo seja reduzir a poluição causada por nitratos deverá incluir disposições que abranjam as seguintes questões, na medida em que forem relevantes:

- 1) Os períodos em que a aplicação de fertilizantes aos solos não é apropriada;
- 2) A aplicação de fertilizantes em terrenos de forte inclinação;
- 3) A aplicação de fertilizantes em terrenos saturados de água, inundados, gelados ou cobertos de neve;
- 4) As condições de aplicação de fertilizantes nas proximidades de cursos de água;
- 5) A capacidade e a construção de depósitos de estrume animal, incluindo medidas que evitem a poluição da água pela drenagem de derramamento para as águas subterrâneas ou superficiais de líquidos que contenham estrume animal e efluentes provenientes de materiais vegetais armazenados, tais como silagem
- 6) Os métodos de aplicação de fertilizantes, incluindo a dose e a uniformidade do espalhamento, tanto dos fertilizantes químicos como do estrume animal, de forma a manter as perdas de nutrientes para a água a um nível aceitável

B)- Poderão ainda ser incluídas as seguintes medidas:

- 7) Gestão de utilização do solo, incluindo sistemas de rotação de culturas e a proporção relativa entre a área consagrada às culturas permanentes e às culturas anuais;
- 8) Manutenção de um nível mínimo de revestimento vegetal do solo durante as épocas (pluviosas) que absorverá o azoto do solo que de outra forma, poderia provocar a poluição da água pelos nitratos.”
- 9) Elaboração de planos de fertilização para cada uma das explorações e de um registo da utilização de fertilizantes;

10) Prevenção da poluição da água provocada pela drenagem ou pela infiltração para além das raízes das plantas nos sistemas de irrigação”

7.3 - Regime jurídico de licenciamento das explorações bovinas da Região Autónoma dos Açores

Actualmente na Região existe um Decreto Legislativo regional nº 16/2007/A que cria o regime de licenciamento das explorações bovinas dos Açores.

Neste Decreto dispõem-se orientações de ordenamento do território que obriga a respeitar e a criar condicionalismos em relação a questões ambientais importantes antes levantadas por outras diplomas, como seja a protecção dos recursos hídricos superficiais.

No artigo 7º estabelecem-se os requisitos de emissão e alteração da licença. No ponto 3 consta: *“As explorações de bovinos que procedam à valorização agrícola de efluentes pecuários como fertilizantes ou correctivos orgânicos e as explorações intensivas e semi-extensivas que exerçam a sua actividade em zonas não sujeitas a legislação especial são obrigados a cumprir as orientações relativas à gestão de efluentes constantes do anexo IV ao presente diploma”.*

No referido ANEXO IV estabelecem-se as Normas para a valorização agrícola de efluentes das explorações de bovinos.

Entre as orientações estabelecidas na alínea B, destacamos:

“5) Não devem ser aplicados estrumes e chorumes a menos de 50 m de uma nascente, poço ou captação de água que se destine a consumo humano.

6) Não devem ser aplicados estrumes e chorumes numa faixa de protecção das ribeiras inferior a 10 m, salvo nas situações concretas em que comprovadamente ocorra contaminação de linhas de água, em que deverá ser redefinida a distância por determinação da Direcção Regional competente em matéria de recursos hídricos.

8) Os efluentes produzidos nas explorações pecuárias devem ser armazenados em instalações adequadas a fim de manterem o seu valor como fertilizante e reduzir os riscos de poluição do ambiente;

9) As instalações pecuárias devem permitir uma limpeza fácil e com baixo consumo de água de lavagem, a fim de diminuir o grau de diluição dos dejectos e capacidade das fossas onde são armazenados;

10) As fossas e tanques de recolha e de armazenagem dos chorumes devem ter paredes e pavimentos impermeabilizados, para impedir a sua infiltração no solo;

11) A capacidade das estruturas de armazenamento dos efluentes de pecuária deve ter em conta a produção total diária e, no mínimo, ser suficiente para armazenar o que é produzido durante o período de tempo em que não é recomendável a sua aplicação ao solo (três-quatro meses no caso dos estrumes e cinco - seis meses no caso dos chorumes).

13) Os estrumes e outros correctivos orgânicos sólidos devem ser armazenados em recintos próprios, protegidos da água da chuva, com pavimento impermeável, em pilhas cuja altura não deve ultrapassar os 2 m para facilitar o seu manuseamento.”

8 – Intoxicação por nitratos e nitritos

Em ruminantes que consomem níveis elevados de nitratos as bactérias do rúmen reduzem estes compostos a nitritos. Os nitritos uma vez absorvidos oxidam o ião ferro da hemoglobina transformando-a em meta-hemoglobina. Com níveis de 30 a 40% de meta-hemoglobina ocorrem sinais clínicos e níveis de 80 a 90% causam a morte. A susceptibilidade das diferentes espécies depende da capacidade de transformar nitratos em nitritos. A espécie mais sensível são os suínos, seguida dos bovinos, ovinos e os cavalos (Radostits et al. 2007).

Nos humanos, os níveis elevados de nitratos, estão também associados a quadros de intoxicação. A toxicidade ocorre pela redução a nitrito, que possui acção vasodilatadora e metahemoglobinizante, causando sintomas mais sérios, principalmente em crianças, associada à síndrome de morte infantil súbita, doença que é vulgarmente designada por “blue baby”. Valores acima de 50 mg/L de NO_3 podem ser considerados perigosos para crianças com idade inferior a 6 meses. A intoxicação por nitratos manifesta-se quase de imediato, de 1 a 2 horas após a ingestão, com náuseas, vômitos, cianose, tontura, fraqueza e, eventualmente, perda de consciência. Para além disso, a exposição contínua, crónica, do homem a nitratos, é potencialmente perigosa devido à possibilidade de formação de nitrosaminas que são compostos reconhecidos como agentes cancerígenos (Nigel B. 2000; Forman D. et al., 1985; Fraser P. et al., 1980; WHO, 1985).

De acordo com o Anexo I do Decreto-Lei nº 236/98, de 1 de Agosto, que fixa os valores máximos recomendados e admissíveis para a água de consumo, o valor máximo recomendado (VMR) é de 25 mg NO_3 /L e o do valor máximo admissível (VMA) é de 50 mg NO_3 /L. No caso dos nitritos o valor máximo admitido é de 0,1 mg NO_2 /L. Não conhecemos qualquer limite legal imposto, quer para os nitratos quer para os nitritos para o leite de consumo.

9- A contagem das células somáticas no leite como indicador da saúde produtiva dos rebanhos e qualidade do leite

As células somáticas (do grego "soma" = corpo) são células provenientes do organismo da vaca definindo-se por oposição à presença eventual no leite de células estranhas ao animal (Serieys, 1985). Os glóbulos brancos no leite, os leucócitos, juntamente com um pequeno número de células epiteliais, constituem este grupo de células, (Philpot e Nickerson, 1991). A infecção é o principal factor que faz elevar a contagem de células somáticas (CCS) no leite. Estas células fazem parte da resposta inflamatória defensiva contra a presença de micróbios na glândula mamária, ou seja contra as mamites. O leite da glândula mamária saudável, não infectada, contém sempre algumas células somáticas, mas em pequeno número (<100.000 células somáticas/ml/leite). Um estudo efectuado por Eberhart et al. (1979) indica que 50% das vacas sãs têm contagens inferiores a 100.000 e 80% menos de 200.000 células por ml de leite. Os neutrófilos aumentam dramaticamente sendo a maioria das células e podem chegar até 95% das células somáticas contadas em glândulas infectadas (Kirk,. 1984; citado por Rebhun 1995). As células mononucleares e as células epiteliais contribuem também para a contagem das células somáticas, mas os neutrófilos compreendem a maioria das células.

As células somáticas são tendencialmente mais elevadas nas primeiras duas semanas de lactação assim como nas últimas duas, e mais baixas no pico da lactação. Outros factores como a estação do ano, a idade das vacas, e o número relativo de vacas nos vários estágios de lactação podem influenciar a contagem das células somáticas no leite do tanque. Para além da infecção a contagem das células somáticas é também influenciada, embora em muito menor grau, pela fase de lactação. As CCS são mais elevadas no Verão, coincidindo com um aumento do número de infecções que ocorrem neste período (Hogan et al. 1989; Pape et al., 1973; Smith et al., 1985; citados por Matos, 1998). Outros factores que contribuem para a variação no número de células são por exemplo a espécie, ou a estirpe, de microrganismo prevalecente no rebanho, a virulência dos microrganismos; o stress e o déficite imunitário da vaca leiteira (Matos, 1998).

No leite mamítico as células somáticas predominantes são portanto os neutrófilos (Leucócitos Polimorfonucleados (PMNs)), enquanto que no leite de vacas não infectadas são os Macrófagos (M) e alguns, poucos, linfócitos (L) e algumas células plasmáticas, ou epiteliais, em pequeno número. As células somáticas não são a causa das mamites mas são a resposta defensiva necessária contra a presença de micróbios na glândula mamária . Os PMN são vitais para a eliminação das infecções mamíticas (Harmon, 1994).

Um aumento da CCS relaciona-se directamente com o número de infecções no rebanho e com a perda de produção de leite mas este indicador deve apenas ser utilizado como indicador geral do estado sanitário dos úberes de um rebanho e da qualidade do seu leite, mas não como parâmetro de diagnóstico individual, ou servir de critério e decisão para o tratamento (Reneau, 1986, citado por Matos, 1998). A correlação entre Contagem de Células Somáticas (CCS) e a percentagem de quartos infectados num rebanho não é muito elevada ($r=0.64$), razão pela qual este parâmetro não deverá ser utilizado como critério de decisão único para o tratamento. Para o médico veterinário (e claro também para a vaca) a presença de células somáticas no úbere não é um mal, mas antes um benefício, pois estas células encarregam-se de iniciar o processo inflamatório, portanto, a mobilização dos mecanismos de defesa frente à invasão microbiana. De notar, por exemplo, que a maior parte das infecções por *Escherichia coli* (*E. coli*) se auto-curam por acção da resposta leucocitária maciça, que perdura no tempo para além do momento de cura. Por outro lado a falha nos mecanismos fagocíticos leva a que o *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) sobrevivam muitas vezes no interior dos fagosomas e escapem à acção dos antibióticos. Em consequência as infecções provocadas por este microrganismo tendem a assumir um carácter crónico.

A facilidade com que estas células podem ser contadas electronicamente fez delas um parâmetro muito utilizado para o pagamento do leite. Na maior parte dos países da CE a contagem das células somáticas não excede as 400.000 células, em média. Em outros países este limite não poderá exceder para o leite a 100.000 células, havendo mesmo quem advogue a descida deste limite para as 50.000 células. Uma amostra de leite de tanque com a contagem de células somáticas igual ou superior a 500.000 células

significa provavelmente que mais de 50% das vacas estejam infectadas (Philpot, .1984, citado por Rebhun, 1995). Muitas explorações que usam boas práticas de ordenha e de higiene de ordenha e ainda boas práticas de controlo das mamas produzem leite com contagens inferiores a 100.000 células/ml, e este nível deve ser o exigido por todas as que procuram níveis de excelência na qualidade do leite. Para a maioria das explorações leiteiras os objectivos devem incluir contagens inferiores a 200.000 e não mais do que 300.000 em explorações com bom maneio higio-sanitário dos úberes.

A legislação actual impõe um limite máximo de 400.000 células somáticas/ml no leite laborado pela indústria. Esta tem assim que, através dos mecanismos associados à classificação de leite, nomeadamente de prémios ou penalizações pela qualidade, garantir que o volume de leite entregue pelos bons produtores seja superior ao dos produtores que entregam leite “menos bom” por forma a garantir que laboram uma matéria prima que satisfaça as exigências legais.

A taxa celular do leite reflecte a importância das infecções subclínicas pelos microrganismos Gram⁺ (estafilococos e estreptococos) e em menor grau dos Gram⁻, excepção feita a algumas estirpes toxigénicas de *E. coli*. Um aumento da CCST (Contagem de Células Somáticas do leite do Tanque) relaciona-se directamente com o número de infecções no rebanho e com a perda de produção de leite. Uma correcta interpretação do resultado global da contagem de células somáticas, (CCST), num rebanho; assim como os elementos individuais da CCS de cada vaca (CCSI) e de cada quarto (CCSIQ), facilitam uma avaliação epidemiológica das infecções do úbere, focando-se a atenção na causa mais provável da existência de um problema, ou problemas, de mamas num rebanho. A combinação da CCS com culturas bacteriológicas e observações de campo resulta na formulação de medidas específicas para cada rebanho (Reneau, 1985). O registo mensal da CCST é muito útil. Um registo apenas é inconclusivo, sendo mais importante a tendência indicada por várias contagens sucessivas.

O aumento da CCS tem uma correlação negativa com a produção (hipogalactia) (Quadro 3), (Fetrow et al., 1988, Raubertas e Shook, 1982; Ward e Schultz, 1972; Fox et al., 1985). Estes estudos suportam a ideia de que esta redução na produção se deve ao dano feito ao epitélio mamário pelos neutrófilos em migração. Outros estudos sugerem que outros mecanismos fisiológicos da inflamação possam estar envolvidos

(Shuster et al., 1991 ab). A injeção de endotoxina, (LPS), provoca a quebra de produção em quartos tratados, (inflamados), e não tratados, (não inflamados), o mesmo acontecendo quando se faz a injeção da endotoxina intravenosamente, sugerindo uma justificação sistémica para a perda de produção. O mesmos autores, em vacas tornadas parcialmente refractárias, encontraram que estas recuperavam rapidamente a produção após tratamento com endotoxina mesmo na presença de um influxo intenso de leucócitos nos quartos tratados (Schuster e Harmon, 1991).

QUADRO 3. Correlação negativa entre a CCST e a produção dos rebanhos leiteiros (CCST X 1.000) (Adaptado de Harmon, 1994)

CCST	% QUARTOS INFECTADOS	% PERCA DE PRODUÇÃO
200	6	0
500	16	6
1000	32	18
1500	48	29

O leite com células somáticas baixas têm melhor sabor e produz mais queijo quando usado no processamento deste. O leite rico em células somáticas contem teores muito elevados de plasmina, uma enzima proteolítica responsável pela degradação das caseínas, pelo menor rendimento e qualidade dos lactícínios (Matos, 1998). As alterações da composição do leite devido ao aumento das células somáticas são múltiplos, diminuem: a gordura, a lactose, a caseína total, o potássio e o cálcio; aumentam por outro lado: a proteína do soro, as imunoglobulinas, o sódio, o cloro, a lactoferrina e o ponto de congelação do leite (Matos, 1998) (Ver Síntese no Quadro 4)

Quadro 4 . Síntese dos efeitos negativos associados à CCST e às alterações da composição do leite	
↓ Gordura	↑ Proteína do Soro
↓ Lactose	↑ Imunoglobulinas
↓ Ponto de Congelação do Leite	↑ Sódio (sabor salgado no leite)
↓ Caseína Total (menos queijo)	↑ Cloro
↓ Potássio	↑ Lactoferrina (positivo)
↓ Cálcio	

A redução significativa dos teores de β -caseína associada a valores altos de células somáticas resultam numa baixa de tensão da coalhada. Esta tensão da coalhada afecta a produção do queijo ao influenciar as perdas de gordura e caseína no soro (Bynum et al., 1982, Mayes et al., 1984; citados por Politis et al., 1987).

Valores de CCS elevados estão associados com a elevação significativa na relação caseína solúvel/caseína micelar (Ali et al., 1980; citados por Politis et al., 1987). Daqui que mais caseína esteja então disponível para a proteólise pela plasmina e menos para a formação de coalhada.

Munro et al., (1984), (citados por Politis, 1987) registaram que valores elevados de CCS estavam associados com propriedades de coagulação inferiores do leite, como são, um tempo de coagulação mais prolongado e a firmeza da coalhada mais reduzida.

A capacidade de produção de queijo a partir do leite é ditada pela sua composição. Valores elevados de CCS são associados com teores de gordura e de caseína mais baixos, os dois componentes mais importantes em termos de produção, assim como na eficiência de produção de queijo.

Também importante é o pH mais elevado associado com a CCS elevada. A actividade das enzimas que com sucesso coagulam o leite diminuem com o aumento do pH.

Baseado no estudo de Politis et al., (1987), conclui-se que na produção de queijo são possíveis melhores resultados utilizando-se leite com Contagem de Células Somáticas

(CCST) abaixo de 500.000 células/ml, ou mesmo melhor abaixo de 300.000 células somáticas por ml.

O controlo das células somáticas passa necessariamente pela adopção de um programa de luta eficaz, contra as mamites, que deverá ser constituído por um grupo de medidas que tenham o objectivo de reduzir o grau de incidência a um nível económico aceitável. Para o programa de controlo ser aceite, este deve ser económico, prático, efectivo nas mais variadas condições de maneio, reduzindo o número de novas infecções, sendo que este deve também diminuir a duração das infecções existentes e a incidência das mamites clínicas (Philpot e Nickerson, 1991).

As cinco principais medidas de controlo sanitário das mamites são:

1. A higiene do úbere e a desinfeção dos tetos, antes e após a ordenha;
2. O tratamento dos casos clínicos;
3. O tratamento de secagem de todas as vacas com antibiótico;
4. A reforma das vacas com mamite crónica;
5. Uma máquina de ordenha a funcionar bem e correctamente higienizada.

(Blowey e Edmonson 1995)

10- A Ureia *versus* a Qualidade e a Produção de Queijo

O efeito principal da ureia no leite, em relação ao queijo, quer ela tenha origem numa dieta alta em azoto, quer este tenha sido adicionado ao leite, é o de o deixar menos seco, menos rijo e mais cremoso. Ali et al., (1980) (citados por Martin et al., 1997) obtiveram resultados que confirmam que a adição de ureia ao leite origina queijos húmidos.

A fraca habilidade de drenagem de leites contendo valores altos de ureia no leite pode ser parcialmente explicado pela sua baixa taxa de acidificação durante a moldagem do queijo, resultando em queijos húmidos à desmoldagem. A ureia parece retardar a acidificação (Martin et al., 1997) estando assim directamente envolvida na cinética da acidificação e nas diferenças de textura do queijo.

O conteúdo em ureia do leite depende naturalmente das práticas de alimentação, variações sazonais no conteúdo de ureia podem explicar associações tais como as observadas por Martin e Coulon (1995), citados por Martin et al., (1997), entre as práticas de alimentação e as características dos queijos maturados. Tudo isto sugere o interesse em que os fabricantes de queijo teriam em conhecer o teor de ureia no leite em determinados períodos do ano de modo a que possam controlar a produção de queijo e as suas características.

TRABALHO EXPERIMENTAL

11- Material e métodos

O presente trabalho foi realizado em colaboração com o Serviço Regional de Classificação do Leite da Ilha de S. Miguel (SERCLASM) e consistiu na análise de 1609 amostras de leite, no mês de Julho, e 1607 amostras no mês de Outubro, de 2008, correspondentes a amostras de leite dos rebanhos da Ilha de S. Miguel, Açores, recolhidas, como habitualmente, pelos citados serviços de classificação de leite. As amostras, recolhidas em condições de esterilidade, nos diversos postos de recolha de leite existentes na Ilha, foram transportadas para o respectivo laboratório sob condições de refrigeração. Consideramos esta amostragem representativa dos rebanhos da Ilha uma vez que o número total de explorações leiteiras se situa em torno das 1673.

Após aquecimento das amostras de leite, em banho-maria, a 36º C, durante 1 hora, as análises químicas foram efectuadas num aparelho Milk Scan ST 6000 - Foss Electric[®], tendo sido realizadas as seguintes determinações: teor percentual de Proteína Bruta no Leite (PB%); teor percentual de Gordura (Teor Butiroso =TB %); e o Teor de Ureia no Leite (mg/dl). O aparelho em causa foi devidamente calibrado fazendo recurso a amostras de referência, adquiridas para o efeito, que no caso da determinação da ureia consistiram em 10 amostras de referência, com um teor de ureia compreendido no espectro de 5 a 30 mg de ureia /dl. Uma vez que a ureia (cuja fórmula é (NH₂)₂CO) contem 46,7% de Azoto, os resultados finais foram convertidos em AUL/MUN, multiplicando-se os resultados por 0,467, para facilidade de comparação, com os resultados referidos por outros autores. Sempre que necessário, e também para efeitos de comparação, os valores expressos por outros autores em Ureia o Leite (UL/MU), em mmol/L, foram também convertidos em Azoto Ureico no Leite (AUL/MUN), em mg/dl, através da seguinte fórmula:

Fórmula de Conversão: **AUL/MUN** (azoto ureico no leite, mg/dl) = **UL/MU** (ureia no leite, mmol/L) × 2.8.

Para além destas determinações realizou-se, recorrendo-se às mesmas amostras, Contagem de Células Somáticas do Leite de Rebanho (CCSR), num aparelho Fossomatic[®], que utiliza a tecnologia da citometria de fluxo. Este aparelho foi também devidamente calibrado, recorrendo-se a amostras de referência, adquiridas a um laboratório de referência.

Os dados foram analisados estatisticamente com recurso ao Software-SPSS 15.0[®], procedendo-se ao cálculo das estatísticas de tendência central e de dispersão. Editaram-se histogramas, e realizaram-se testes de correlação entre variáveis.

12 - Resultados e Discussão

As amostras de leite analisadas, no mês de Julho, apresentaram um teor médio em proteína de 3,20%. O mesmo parâmetro analítico, no mês de Outubro, apresentou um teor médio de 3,34% (Ver Figuras 11 e 12). Uma ligeira subida que se poderá justificar pela menor quantidade média de leite entregue pelos produtores em Outubro = 295 litros, enquanto que em Julho foi de 378 litros (Ver Figuras em Anexo I e II). Para além dos factores genéticos, alimentares, ambientais, fase da lactação, etc. susceptíveis de fazer variar a composição do leite, a quantidade de leite produzido é das mais importantes causas de variação, tanto do teor em proteína, como de gordura, como também das células somáticas; facto referido por muitos autores (Akers , 2002); o que também foi constatado neste trabalho para estes três parâmetros, como adiante confirmaremos.

Como referimos, em sede de revisão bibliográfica, Harris e Bachman (1988) apontam como valor de referência para o teor em proteína no leite de vacas da raça Holstein 3,2 %. Assim os valores por nós aqui reportados são iguais, ou mesmo superiores (em Outubro), aos valores referidos por aqueles autores.

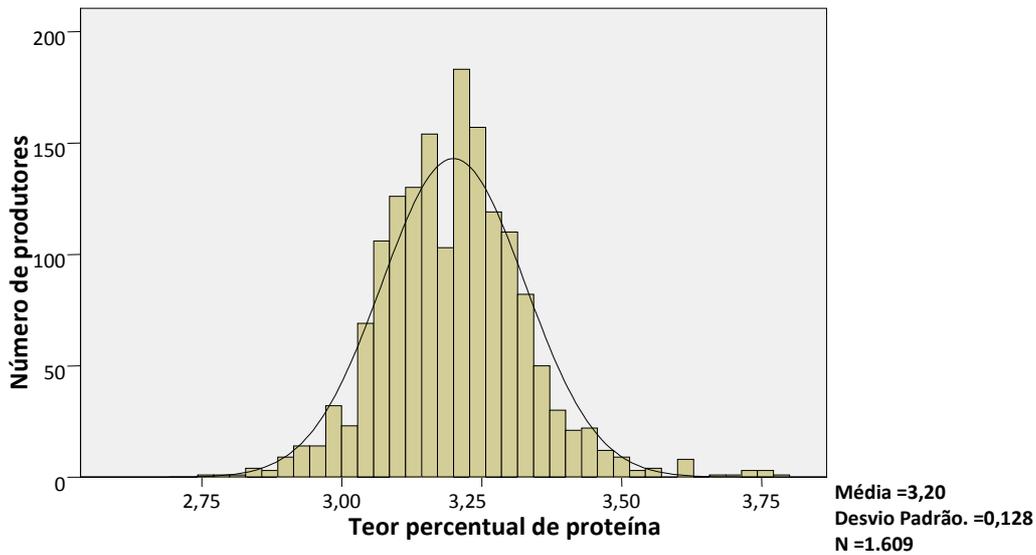


Figura 11- Histograma de distribuição dos produtores de leite da Ilha de S. Miguel de acordo com o teor proteico do seu leite em amostragem do mês de Julho de 2008

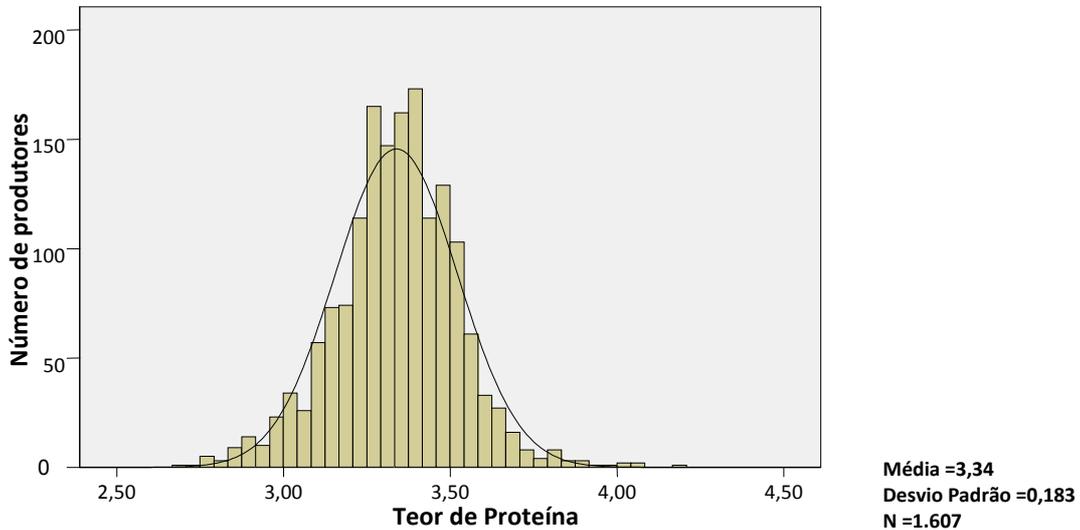


Figura 12- Histograma de distribuição dos produtores de leite da Ilha de S. Miguel de acordo com o teor proteico do seu leite em amostragem do mês de Outubro de 2008

Os teores em gordura, de 3,79% em Julho, e de 3,97% em Outubro, apresentaram uma variação no mesmo sentido da verificada pelo teor proteico, facto que também parece ser justificado pelas menores quantidades de leite entregues (ver Figuras 13 e 14).

De igual forma estes valores ultrapassam o valor de referência para a percentagem da gordura no leite apontado por Harris e Bachman (1988), que é de 3,4%.

Como se sabe, um dos factores que mais faz variar o teor butírico do leite, para além da genética do animal, e da quantidade de leite produzido, é a natureza da dieta; em particular o teor em fibra na dieta e a sua natureza (fibra efectiva) (Grummer, 1991). Seria natural, nos Açores, que a erva da pastagem fosse mais rica em fibra no mês de Julho do que em Outubro, quando se verifica normalmente um segundo rebrote da erva da pastagem mas, especialmente em 2008, o Outono foi mais seco, o que poderá ter condicionado neste aspecto os nossos resultados.

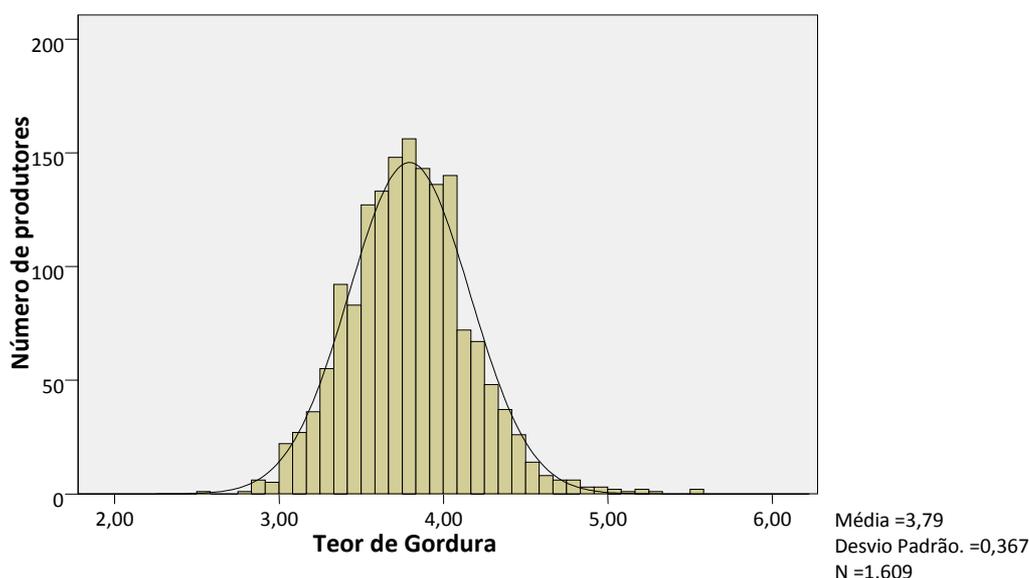


Figura 13- Histograma de distribuição dos produtores de leite da Ilha de S. Miguel de acordo com o teor butírico do seu leite em amostragem do mês de Julho de 2008

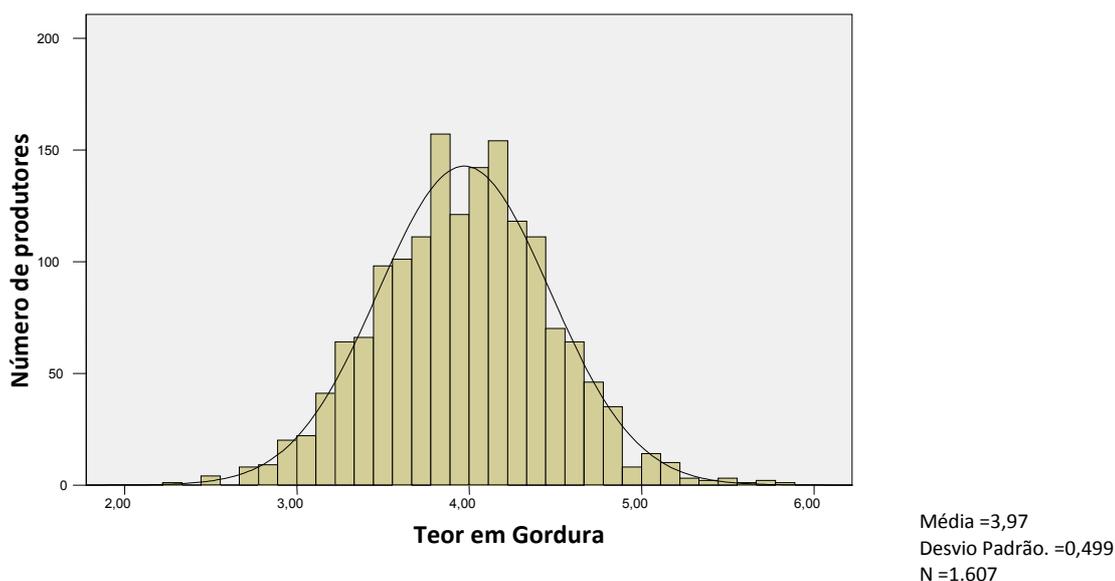


Figura 14- Histograma de distribuição dos produtores de leite da Ilha de S. Miguel de acordo com o teor butíroso do seu leite em amostragem do mês de Outubro de 2008

O valor médio da contagem de células somáticas, nas amostras de leite dos rebanhos estudados (CCSR), foi de 511.000 no mês de Julho e de 449.000 células no mês de Outubro / Ver Figuras 15 e 16). Este parâmetro, como referimos na revisão bibliográfica, é um bom indicador do estado sanitário dos úberes dos rebanhos, uma vez que é um indicador de mamites, ou seja, de infecções da glândula mamária. A legislação actual impõe como valor máximo para o leite de mistura, em fábrica, para que possa ser transformado, um limite máximo de 400.000 CCS. Acresce que a percentagem de produtores que excede este valor de referência, foi de 51%, no mês de Julho, e 39%, no mês de Outubro (ver Figura 17).

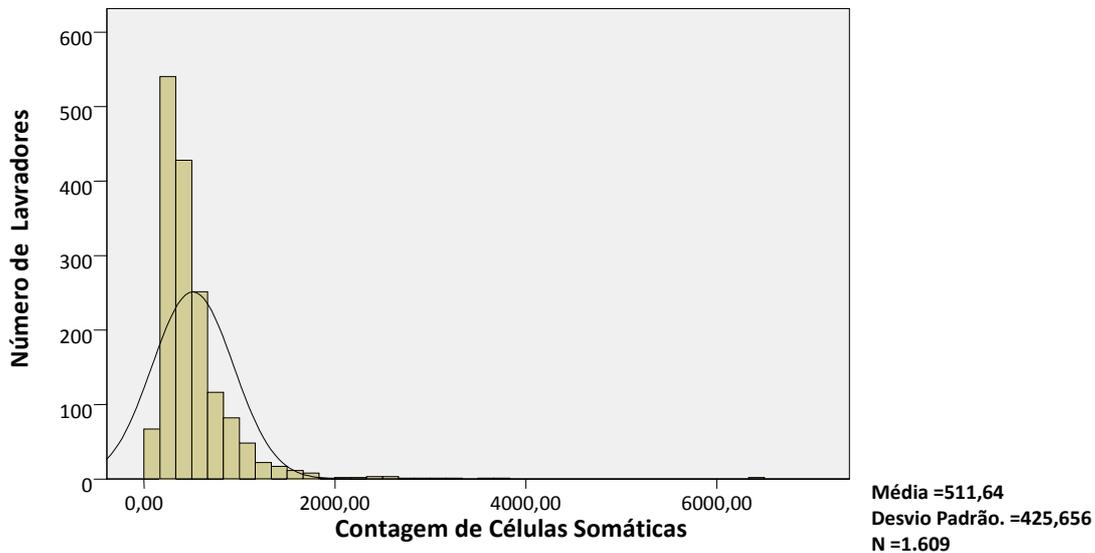


Figura 15- Histograma de distribuição dos produtores de leite da Ilha de S. Miguel de acordo com a contagem de células somáticas do seu leite em amostragem do mês de Julho de 2008

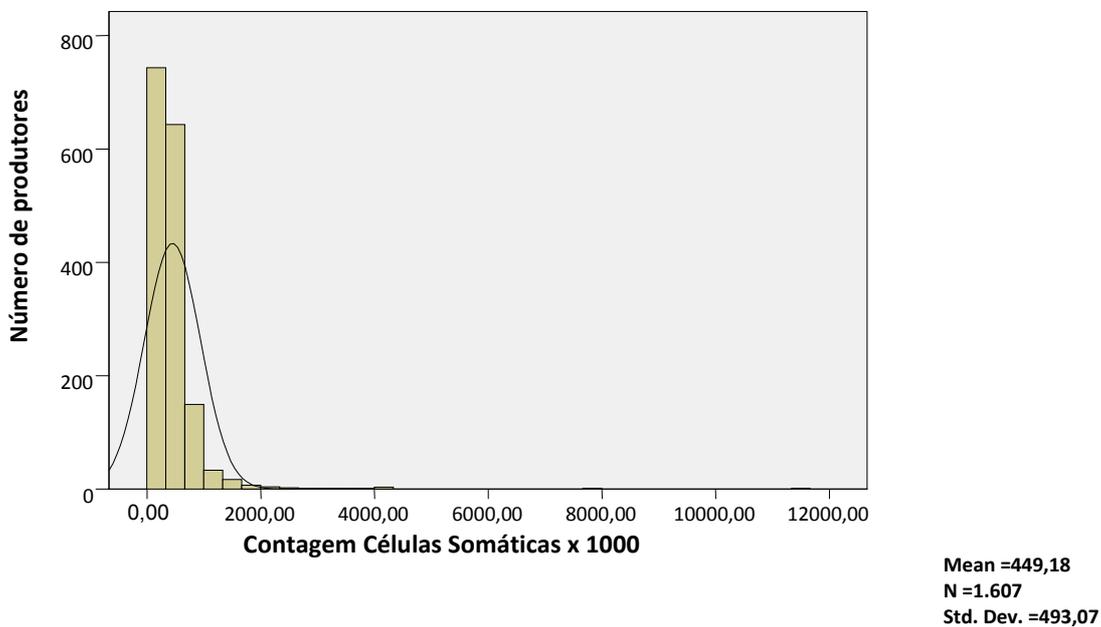


Figura 16- Histograma de distribuição dos produtores de leite da Ilha de S. Miguel de acordo com a contagem de células somáticas do seu leite em amostragem do mês de Outubro de 2008

Em Julho houve mesmo um lavrador que apresentou uma Contagem de Células Somáticas superior a 6.000.000 CCS, e em Outubro outro produtor ultrapassou mesmo este valor entregando um leite com 11.000.000 de Células Somáticas. Porque se trata de leites mamíticos, estes leites nunca deveriam ser aceites para transformação; mesmo o leite com contagens superiores a 1.000.000 de células somáticas. Bastaria para tal realizar, à semelhança do que se passa em outras ilhas (Matos, comunicação pessoal), um simples Teste Californiano de Mamites (TCM), como prova rápida de cais no momento da recepção do leite. As fábricas de transformação de leite só poderão cumprir o limite imposto pela lei, se os maiores produtores de leite, entregando bastante mais leite, tiverem contagens bastante inferiores àquele limite, diluindo o leite pior.

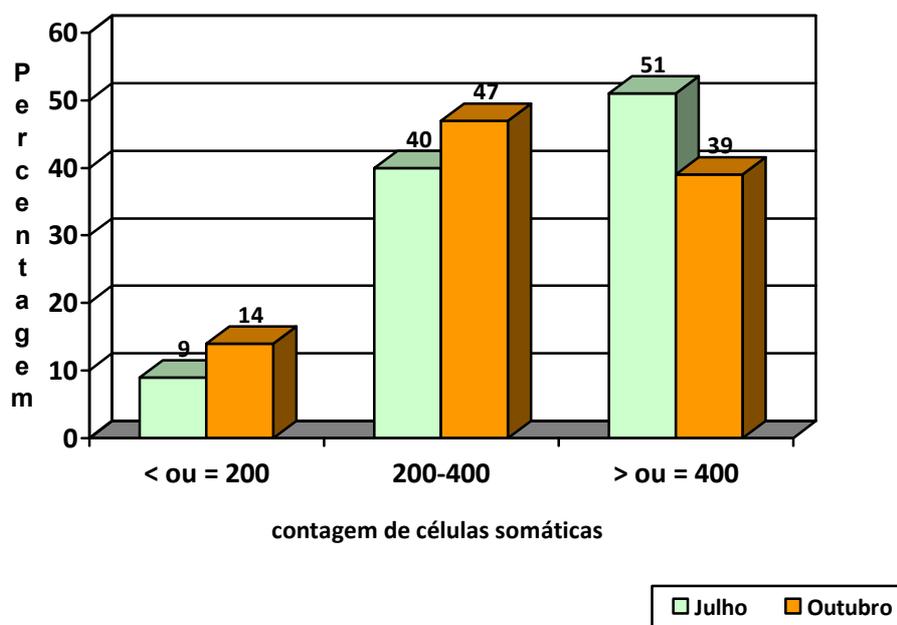


Figura 17- Distribuição percentual dos produtores de leite (n= 1609 produtores), de acordo com contagem de células somáticas (x1.000), em leite do rebanho, em São Miguel, no mês de Julho e de Outubro de 2008.

A percentagem de produtores que fizeram entrega de leite com bons níveis de células somáticas (<200.000 células/ml) foram apenas 9%, em Julho, e 14% em Outubro (ver Figura 17). Para além de as temperaturas serem mais baixas em Outubro, o que facilita um melhor controlo de mamites, o facto da quantidade de leite entregue em média por cada produtor ser maior em Julho (379 litros), do que em Outubro (295 litros),

proporciona também uma maior diluição das células somáticas. A correlação entre a produção de leite a quantidade de células somáticas foi negativa (ver Quadro 5), facto que corrobora os dados de outros autores (Reneau, 1986; Harmon, 1994; Matos, 1998).

Parâmetro	Julho	Outubro
Quantidade Leite	-0,161(a)	-0,126(a)
Proteína	0,132(a)	-0,029
Gordura	0,086(a)	0,024

Notas: (a) Correlações significativas ao nível de 0,01

Quadro 5 – Correlação entre a Contagem de Células Somáticas, a quantidade de leite entregue pelos produtores, a percentagem de proteína e de gordura do leite.

Os valores muito elevados da contagem de células somáticas indicam um risco acrescido da resíduos de antibióticos, já que é natural que rebanhos com contagens de células somáticas deste nível recorram com mais frequência à antibioterapia.

Relativamente à concentração de AUL/MUN, no mês de Julho, o valor médio encontrado foi de 16,21 mg/dl, e no mês de Outubro, 21,66 mg/dl. A amplitude e distribuição de valores encontrados seguem curvas de normalidade (Figuras 18 e 19). Embora haja alguma controvérsia entre os diversos autores quanto aos parâmetros de normalidade para o AUL/MUN, os valores obtidos, quando comparados com os sugeridos por alguns (Hutjens e Barmore, 1995; Jonker, et al, 1999; Godden et al. 2001, a) e b)) podem ser considerados dentro de um intervalo de normalidade, no mês de Julho, (de 12 a 18 mg/dl); enquanto que em Outubro, o valor médio ultrapassa o valor defendido como limite máximo 18 mg/dl (Quadro6) (Hutjens e Barmore, 1995), a partir do qual o produtor teria de equacionar soluções no sentido de, ou diminuir o aporte de proteína, ou aumentar o nível energético da ração dos seus animais, ou, quiçá, suplementar com proteína by-pass, ou aminoácidos essenciais, no caso de elevadas produções por vaca.

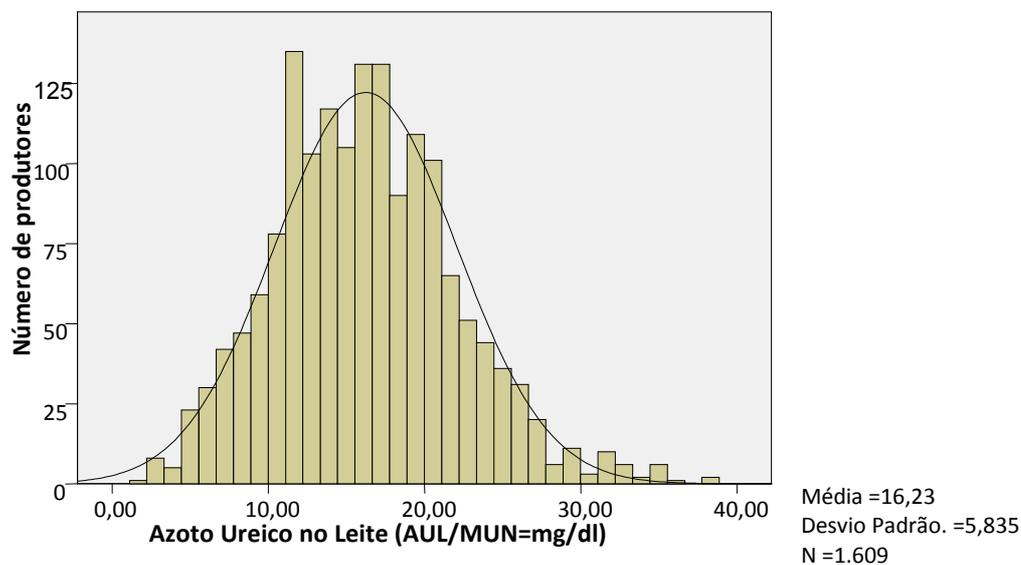


Figura 18. Histograma de distribuição dos produtores de leite da Ilha de S. Miguel de acordo com o AUL/MUN em amostragem do mês de Julho de 2008.

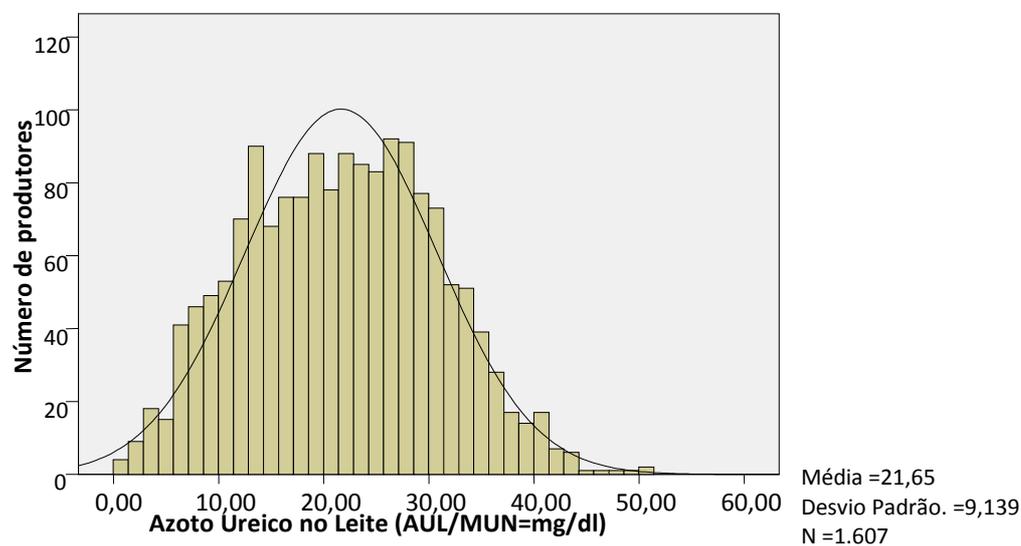


Figura 19 . Histograma de distribuição dos produtores de leite da Ilha de S. Miguel, de acordo com o AUL/MUN em amostragem do mês de Outubro de 2008.

Agrupando os resultados obtidos, de acordo com o quadro interpretativo defendido por Hutjens e Barmore (1995)(Quadro 6), verificamos, por um lado, que a percentagem de produtores cujo leite tinha concentrações de AUL/MUN abaixo do desejável (< 12mg/dl) foi de 25 % em Junho e 16% em Outubro (ver Figura 20). As causas destes valores teriam que ser interpretados em função do nível de produção de cada exploração e, principalmente, em função da percentagem de proteína no leite de cada uma das explorações. Ora embora os teores médios de proteína verificados (Figuras 11 e 12), de 3,2% em Julho, e 3,34%, em Outubro, se situem dentro do que é desejável, igual ou acima de 3,2%, o que é certo é que, em algumas explorações, a percentagem de proteína verificada foi mais baixa do que este valor. Relativamente aos lavradores com valores de AUL/MUN dentro do intervalo considerado de normalidade (de 12 a 18 mg/dl), estes eram em Julho 39% e em Outubro apenas 20% (ver Figura 20). Estes dados, conjugados com os resultados obtidos para o intervalo acima dos 18 mg/dl de AUL/MUN, que foram de no mês de 36% em Julho, e de 64% em Outubro, indicam claramente alterações na composição da dieta dos animais, que só podem ser justificados pelas alterações ocorridas pelo rebrote das pastagens no Outono, portanto ervas mais viçosas e tenras, muitas vezes resultado de adubações azotadas intensas. A este respeito, será de notar que o Verão de 2008 foi mais seco, o que poderá ter causado uma relativa carestia estival de pastagem, provocando uma necessidade de os lavradores as recuperarem rapidamente, à custa de adubação, para poderem alimentar os seus animais.

Lembramos aqui que o teor em proteína bruta na dieta (PB, % de MS) é o factor com mais forte relação com o AUL/MUN; especialmente o excesso de proteína degradável no rúmen (PDR). Para além disso podem contribuir para esta situação, a pouca energia na ração; o desequilíbrio entre os teores de carboidratos e proteína; o déficite de proteína não degradável no rúmen (PNDR); e o deficit de aminoácidos essenciais, em particular de lisina e metionina (em caso de elevados níveis de produção).

Como atrás constatámos pelo estudo de Roseler et al. (1993)(Quadro2), a deficiência de proteína, bem como os excessos de PNDR/RUP e/ou PDR/RDP, trazem desvantagens em relação à dieta ajustada às exigências do National Research Council -

NRC (1989), que recomenda uma proporção de 35% a 40% da proteína bruta total, como devendo ser proteína não degradável no rúmen.

A erva de pastagem, verde e muito tenra, tem, normalmente, um teor baixo de FDN/NDF e teores elevados em PDR/RDP, em relação à erva mais madura, característica do Verão (Hoffman et al., 1993; Holden et al., 1994a; Holden et al. 1994b; Holden et al., 1995; Hongerholt e Muller 1998). As vacas leiteiras de alta produção (35 a 40 kg/leite/dia), em início de lactação, requerem dietas com 16 a 18% de PB/CP por kg/MS, e a percentagem de PNDR/RUP deve constituir 37 a 38% da proteína total. A proteína da erva de pastagem, muito tenra, ultrapassa frequentemente as necessidades proteicas totais em PB/CP, mas não satisfaz este último critério (NRC, 2001). A proteína bruta (PB/CP) da erva da pastagem tem uma taxa de degradação no rúmen muito elevada (Van Vuuren et al., 1991), libertando rapidamente azoto (N). Um dos desafios na utilização da pastagem para a produção de leite é maximizar a captura de N. Van Vuuren et al. (1991) constataram que a taxa de degradação ruminal da proteína do azevém (*Lolium perenne*) era de 9 a 14%/h, enquanto que a matéria orgânica (MO), composta essencialmente por carboidratos estruturais, se degrada a uma taxa de 7%/h, criando assim uma relação assíncrona entre a disponibilidade de N para a síntese da proteína microbiana e a disponibilidade de energia para o mesmo efeito. Esta captura ineficiente de N pode resultar em elevados níveis de amónia ruminal, elevados níveis de azoto ureico no sangue (AUS/BUN), e, em consequência, azoto ureico no leite (AUL/MUN) em vacas em regime de pastoreio. Uma das formas de maximizar a captura de N, em particular nos rebanhos com baixo teor de proteína no leite e, simultaneamente, elevados níveis de AUL/MUN, conforme recomenda Wolter (2000), seria a suplementação com silagem de milho, ou um concentrado constituído pela mistura de pelo menos dois cereais, por exemplo cevada e milho, ou milho e farinha de mandioca, sem suplemento proteico, apenas o mineral, no intuito de sincronizar a libertação de N com a disponibilidade de energia no rúmen, maximizando-se a síntese de proteína pela flora ruminal.

Associações entre AUL/MUN e os níveis na dieta de PB e PDR têm sido referidas por muitos autores (Gustafsson and Carlsson, 1993; Baker et al., 1995; Butler et al., 1995; Broderick e Clayton, 1997; Godden et al., 2001; Hojman et al., 2004.) e estes mesmos autores sugerem que aumentar o aporte energético à flora ruminal contribui para a diminuição da perda de N a partir do rúmen e uma maior taxa de síntese de proteína microbiana e como consequência do N excretado pelo leite.

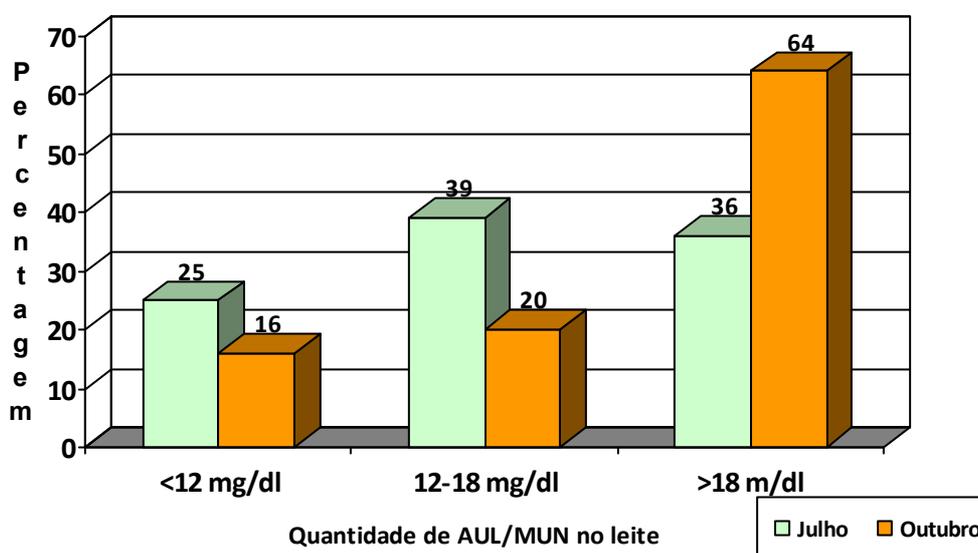


Figura 20. Distribuição percentual de produtores de leite da Ilha de S. Miguel (n = 1609 produtores) em função da concentração do AUL/MUN, em mg/dl, em Julho e Outubro de 2008.

VALORES DE AUL/MUN			
% PROTEÍNA NO LEITE	BAIXO <12 mg/dl	NORMAL 12 a 18 mg/dl	ELEVADO >18 mg/dl
Abaixo de 3,0 %	Def. proteína Def. IPD/IPSD	Def. proteína Def. CHO Def. AAs	Excesso de proteína Excesso IPD/IPSD Def. de CHO Def. AA
Acima de 3,2 %	AA adeq. Def. IPD/IPSD Excesso de CHO	AA adeq. CHO adeq.	Excesso IPD/IPSD Def. CHO

CHO = Carbohidratos; IPD= Ingestão de proteína na dieta; IPSD = Ingestão de proteína solúvel na dieta; AAs= aminoácidos essenciais; Def. = Deficiência.

Quadro 6. Quadro interpretativo dos valores de AUL/MUN, em leite de rebanhos, em função do teor proteico do leite (Adaptado de : Hutjens e Barmore,1995)

A percentagem de lavradores com valores de AUL acima de 20 mg/dl, foi de 24%, em Julho, e de 56%, em Outubro. Valores tão elevados, numa percentagem tão significativa de lavradores (mais de metade em Outubro), são muito preocupantes, pois, para além do desperdício económico, causado pelo uso excessivo de proteína, que custa obviamente dinheiro, estes valores foram associados por diversos autores a

problemas de fertilidade nos rebanhos leiteiros. Lembrar que, por exemplo, no estudo de Larson et al (1997) , que com valores de AUL/MUN maior do que 21 mg/dl era mais provável as vacas retornarem ao estro, evidenciando por isso dificuldade em ficarem prenhas. Conviria verificar se será o caso nestes rebanhos em S. Miguel..

A fim de fazer uma ideia da concentração de AUL/MUN no leite utilizado para transformação pela indústria na Ilha de S. Miguel, e do eventual efeito de diluição dos maiores produtores, recolheram-se amostras de leite, na fábrica de lacticínios Unileite, por duas vezes, uma em Setembro e outra em Outubro. Os valores obtidos nestas amostras foram respectivamente de 24,0 mg/dl de 26 mg/dl. Estes valores, de um certo modo expectáveis, dada a percentagem muito elevada de produtores de leite com valores de AUL/MUN acima das 20 mg/dl, são também indicadores de que as maiores explorações, quase sempre com níveis mais elevados de produção por vaca, são contribuintes positivas para esta situação, facto comprovado por outros autores (Jonker et al., 1999), não podendo as fábricas contar com elas para qualquer efeito de diluição, ao contrário do que normalmente se verifica para as contagens de células somáticas. Estes valores embora sejam elevados, e não existam limites legais ou de referência para o caso do leite, não sendo valores que possam ser considerados tóxicos, pode-se no entanto levantar a questão das suas consequências para as características organolépticas do leite e dos lacticínios, bem como para a saúde de grupos de maior risco, por exemplo os doentes renais.

Com estes níveis de AUL/MUN existe certamente um maior risco de impacto ambiental, quer por estes valores estarem eventualmente associados a fertilização excessiva com adubos azotados, quer pela excreção excessiva de azoto *per si*, por um número tão elevado de animais. A determinação do AUL/MUN poderá mesmo constituir uma excelente ferramenta de monitorização do impacto ambiental das explorações leiteiras dos Açores.

Os valores de correlação entre os valores de AUL/MUN e os outros parâmetros do leite, representados no Quadro 7, são indicadores da existência de correlações positivas e negativas, por vezes antagónicas, como no caso da quantidade de leite produzido. O caso particular da Contagem de Células Somáticas, em que existe uma

correlação negativa, também referida por outros autores (Rajala-Schulz, et al., 2002), é por si só interessante e deveria justificar um estudo mais aprofundado.

Parâmetro	Julho	Outubro
Quantidade Leite	0,055 (b)	-0,141 (a)
Proteína	0,114 (a)	0,088 (a)
Gordura	0,112 (a)	0,089 (a)
Contagem de Células Somáticas	-0,023 (a)	-0.014 (a)

Notas: (a) Correlações significativas ao nível de 0,01; (b) correlação significativa ao nível de 0,05.

Quadro 7 – Correlação entre os valores de AUL/MUN, a quantidade de leite entregue pelos produtores, a percentagem de proteína e de gordura do leite.

13 - Conclusões

A análise do azoto ureico no leite (AUL/MUN) é uma ferramenta interessante, barata, simples de executar, para se monitorizar a adequação e a eficiência de utilização do azoto em vacas leiteiras.

O excesso de proteína na dieta, além de aumentar os custos da alimentação da vaca leiteira, sem retorno em produção de leite, pode diminuir a eficiência reprodutiva dos rebanhos diminuindo a fertilidade das vacas. Por outro lado, a falta de proteína na dieta pode também limitar a produção de leite pela diminuição de precursores para a síntese do leite na glândula mamária. O uso dos valores de AUL para ajustar os teores de proteína bruta da dieta às necessidades das vacas e, potencialmente, aumentar a produção, bem como para otimizar o uso de adubos azotados na pastagens, minimizando-se, quer os custos, quer os impactos ambientais, e na saúde dos animais, são razões suficientes para a implementação deste parâmetro analítico na rotina dos laboratórios de classificação de leite, em geral, e em particular nos Açores. Esta ferramenta analítica é já utilizada em muitos outros países há mais de uma década.

No nosso estudo os valores obtidos, em relação às referências internacionais, situam-se dentro da normalidade no mês de Julho. Já em Outubro os valores foram em média de 21,66 mg/dl, facto que indicia práticas nutricionais desajustadas às reais necessidades dos animais na Ilha de São Miguel em determinadas épocas do ano, provavelmente relacionadas com a adubação azotada excessiva.

Recomenda-se que, em particular nos rebanhos com baixo teor de proteína no leite e, simultaneamente, elevados níveis de AUL/MUN, se suplementem as vacas com silagem de milho, ou um concentrado constituído pela mistura de pelo menos dois cereais, por exemplo cevada e milho, ou milho e farinha de mandioca, no sentido de sincronizar a libertação de N com a disponibilidade de energia no rúmen, maximizando-se a síntese de proteína pela flora ruminal, minimizando-se a excreção de azoto.

Um estudo futuro, que relacionasse os valores de AUL/MUN com os parâmetros reprodutivos, talvez revelasse conclusões interessantes, no sentido de confirmar o

prejuízo que esta prática nutricional estará a repercutir na rentabilidade da exploração.

A determinação dos valores de AUL/MUN em amostras de leite utilizadas correntemente para a classificação de leite poderia ser, sem custos acrescidos, uma ferramenta útil para avaliação do impacto ambiental das explorações pecuárias nos Açores, uma vez que a partir desta determinação se podem contabilizar os valores de N excretados na urina e nas fezes.

Os riscos ambientais do excesso de azoto estão, eventualmente, associados a riscos para a saúde pública; através da possível contaminação de águas superficiais e lençóis freáticos que constituem fonte de abastecimento de água de consumo.

As boas práticas de higiene e ambientais garantem o estado de saúde dos úberes dos rebanhos. A situação por nós constatada de um número médio de células somáticas nos leites dos rebanhos estudados muito elevada faz-nos pressupor que estas boas práticas não são seguidas por muitos produtores da Ilha de São Miguel. A adopção das principais 5 medidas de controlo das mamites garantiria, certamente, uma melhoria a curto médio prazo desta situação com vantagens óbvias para o rendimento do agricultor, para a indústria e para a saúde pública. Recomendamos ainda a realização do Teste Californiano de Mamites (TCM) em São Miguel, como prova rápida de cais, a realizar no momento da entrega do leite, como teste para rejeição dos leites comprovadamente mamítico, à semelhança do que já ocorre noutras ilhas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akers R.M. 2002.** Lactation and the Mammary Gland. Iowa State Press
- Al- Katani, Y.M., Webb, D.W., e Hansen, P.J. 1999.** Factors affecting seasonal variation in 90-d non return rate to first service in lactating Holstein cows in a hot climate. J. Dairy Sci. 82:2611-2616
- Annison E.F. e Bryden W.L. 1999.** Perspectives on ruminant nutrition and metabolism. II. Metabolism in ruminant tissues. Nutr. Res. Rev. 12:147-177
- Baker, L. D., J. D. Fergusson, and W. Chalupa. 1995.** Responses in urea and true protein of milk to different protein feeding schemes for dairy cows. J. Dairy Sci. 78:2424–2434.
- Blowey R. e Edmonson P. 1995.** Mastitis Control in Dairy Herds. Old Pond Publishing Ltd UK
- Broderick, G. A. e M. K. Clayton. 1997.** A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. J. Dairy Sci. 80:2964–2971.
- Burgos,S.A., Fadel, J.G. e Depeters, E.J. 2007.** Prediction of Ammonia Emission from Dairy Cattle manure Based on Milk Urea Nitrogen: Relation of Milk Urea Nitrogen to Urine Nitrogen Excretion. J. Dairy Sci. 90:5499-5508 doi: 10.3168/jds.2007-0299
- Butler, W. R., Cherney D. J. R. e Elrod C. C. 1995.** Milk urea nitrogen (MUN) analysis: field trial results on conception rates and dietary inputs. Page 89 in Proc. Cornell Nutr. Conf., Rochester, NY. Cornell Univ., Ithaca, NY.
- Butler, W.R., Calaman, J. e Beam, S.W. 1996.** Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. J. Animal Sci. 74:858-865
- Carey, DA. ; Caton , J.S. e Biondini, M. 1993.** Influence of energy source on forage intake, digestibility, in situ forage degradation, and ruminal fermentation in beef steers fed medium-quality brome hay. J. Animal Sci. 71: 2260-2269
- Christensen, R.A.; Cameron, M.R: Klusmeyer, T.H. Elliot, J.P e Clark, J.H. 1993.** Influence of amount and degradability of dietary protein on nitrogen utilization by dairy cows. J. Dairy Sci. 76: 3497-3513
- Correa C, H.J. e Cuéllar G., A.E. 2004.** Aspectos clave del ciclo de la úrea com relación al metabolismo energético y proteico en vacas lactantes. Rev. Col. Cienc.Pec. 17: 1;2004.
- Cudoc G. 2006.** Milk Urea Nitrogen (MUN). The Dairy one Improver. Acedido em: <http://www.dairyone.com/Publications/Improver/2006/Feb06ImproverPage.pdf>
- Decreto Legislativo Regional nº16/2007/A.** Regime jurídico do licenciamento das explorações bovinas da região Autónoma dos Açores
- Decreto Legislativo Regional nº19/2003/A.** Plano regional da Água. Açores
- Decreto –Lei nº 236/98, de 1 de Agosto de 1998,** Lei da qualidade da Água
- Decreto-Lei 235/97, de 3 de Setembro de 1997,** Transpõe para o direito interno a Directiva 91/676/CEE, do Conselho de 12 de Dezembro de 1991, relativa à protecção das águas contra a poluição causada por nitratos de origem agrícola. DR 203/97 Série I-A
- Decreto-Lei 68/99,de 11 de Março de 1999,** altera Decreto-Lei 235/97, de 3 de Setembro de 1997 que transpõe para o direito interno a Directiva 91/676/CEE,

- do Conselho de 12 de Dezembro de 1991, relativa à protecção das águas contra a poluição causada por nitratos de origem agrícola. DR 59/99 Série I-A
- De Peters, E. J. e Cant, J.P. 1992.** Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: A Review. *J. Dairy Sci.* 75: 2043-2070
- De Vries, M., e R. Veerkamp. 2000.** Energy balance of dairy cattle in relation to milk production variables and fertility. *J. Dairy Sci.* 83: 62-69
- Eberhart, R. J.; H. C. Gilmore, L. J. Hutchinson, S. B. Spencer, 1979.** Somatic cell counts in DHI samples. Proc. 18 Th. annual meeting. N.M.C. Arlington, VA, USA,
- Ehle, F.R.: Murphy, M.R. e Clark, J.H. 1982.** In situ particle size reduction and the effect of particle size on degradation of crude protein and dry matter in the rumen of dairy steers. *J. Dairy Sci.* 65: 963-971
- Elrod, C.C. e Butler W.R.. 1993a.** Reduction of fertility and alteration of uterine ph in heifers fed excess ruminally degradable protein, *J. Animal Sci.* 71: 694-701
- Elrod, C.C., van Amburgh, M. e Butler ,W.R. 1993b.** Alterations of ph in response to increased dietary protein in cattle and unique to the uterus. *J. Animal Sci.* 71:702-706
- Faverdin, P.; M'Hame, D.; Rico-Gomez, M. e Verité, R. 2003.** La nutrition azotée influence l'ingestion chez la vache laitière. *INRA. Productions Animales.* 16: 27-37.
- Fergusson, J.D., e Chalupa, W. 1989.** Impact of protein nutrition on reproduction in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 72:746-766.
- Fetrow,J., Anderson.K., e Sexton,S. 1988.** Herd Composite Somatic Cell Counts: Average Linear Score and Weighted Average Somatic Cell count Score and Milk Production. *J. Dairy Sci.* EUA, 71; 257.
- Forman, D., Al-Dabbagh, S., Doll, R. 1985.** Nitrates, nitrites and gastric cancer in Great Britain. *Nature.* 313(6004):620–625.
- Fox, L. K., G. E. Shook, e L. H. Schultz. 1985.** Factors related to milk loss in quarters with low somatic cell counts. *J. Dairy Sci.* 68:2100.
- Frank, B e Swensson, C. 2002.** Relationship between content of crude protein in rations for dairy cows and milk yield, concentration of urea in milk and ammonia emissions. *J. Dairy Sci.* 85: 1829-1838.
- Fraser, P; Chilvers, C; Beral, V; Hill, MJ. 1980.** Nitrate and human cancer: a review of the evidence. *Int. J. Epidemiol.* Mar.;9(1):3–11.
- Gehman, A.M., Bertrand, J.A., Jenkins, T.C. e Pinkerton, B.W. 2006.** The effect of Carbohydrate Source on Nitrogen Capture in dairy Cows on Pasture, *J. Dairy Sci.* 89:2659-2667.
- Godden S.M., Lissemore K.D., Kelton D.F., Leslie K.E., Walton J.S., Lumsden J.H. 2001a** Relationships between milk urea concentrations and nutritional management, production, and economic variables in Ontario dairy herds. *J. Dairy Sci.* 84, 1128–1139.
- Godden, S.M.; Lissemore, K.D.; Kelton, D.F.; Leslie, K.E.; Walton, J.S. e Lumsden, J.H. 2001b.** Factors associated with milk urea concentrations in Ontario dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84: 107-114.
- Godden, S.M.; Lissemore, K.D.; Kelton, D.F.; Leslie, K.E.; Walton, J.S. e Lumsden, J.H. 2001c.** Milk Urea testing as a tool to Monitor Reproductive Performance in Ontario Dairy Herds. *J. Dairy Sci.* 84:1397-1406
- Grummer, R. R. 1991.** Effect of feed on the composition of milk fat. *J. Dairy Sci.* 74:3244–3257.

- Guo, K., Russek-Cohen, E., Varner, M.A. e Kohn, R.A. 2004.** Effects of Milk Urea and Other Factors on Probability of Conception of Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 87:1878-1885
- Gustafsson, A.H. e Palmquist, D.L. 1993.** Diurnal variation of rumen ammonia, serum urea, and milk urea in dairy cows at high and low yields. *J. Dairy Sci.* 76: 475-484.
- Gustafsson, A.H.; Carlsson, J. 1993.** Effects of silage quality, protein evaluation systems and milk urea content on milk yield and reproduction in dairy cows. *Liv. Prod. Sci.*, 37:91-105
- Harmon, R. J. 1994.** Symposium: Mastitis and genetics evaluation for somatic cell count. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts *J. Dairy Sci.* 77:2103.
- Harris Jr., B. e Bachman, K.C. 1988.** Nutritional and management factors affecting solid-non-fat, acidity and freezing point of milk. Gainesville, Institute of Food and Agricultural Sciences,. (Florida Cooperative Extension Service, DS25).
- Hof, G.; Vervoorn, M.D. ; Lenaers, P.J. e S. Tamminga. 1997.** Milk urea nitrogen as a tool to monitor the protein nutrition of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80: 3333-3340.
- Hoffman, K., L. D. Muller, S. L. Fales, e L. A. Holden. 1993.** Quality evaluation and concentrate supplementation of rotational pasture grazed by lactating cows. *J. Dairy Sci.* 76:2651–2663.
- Hogan, J. S., Smith, K. L., Hoblet, K. H., Todhunter, D. A., Schoenberger, P. S., Hueston W. D., Pritchard, D. E., Bowman, G. L., Heider, L. E., Brockett, B. L., e H. R. Conrad. 1989.** Bacterial counts in bedding materials used in nine commercial dairies. *J. Dairy Sci.* 72:250.
- Hojman, D., Kroll, O., Adin, G., Gips, M., Hanochi, B., Ezra, E. 2004.** Relationships between milk urea and production, nutrition, and fertility traits in israeli dairy herds. *J. Dairy Sci.*, 87, 1001–1011.
- Holden, L. A., Muller, L. D. e S. L. Fales. 1994.** Estimation of intake in high producing Holstein cows grazing grass pasture. *J. Dairy Sci.* 77:2332–2340.
- Holden, L. A., L. D. Muller, G. A. Varga, e P. J. Hillard. 1994.** Ruminal digestion and duodenal nutrient flows in dairy cows consuming grass as pasture, hay, or silage. *J. Dairy Sci.* 77:3034–3042.
- Holden, L. A., L. D. Muller, T. Lykos, e T. W. Cassidy. 1995.** Effect of corn silage supplementation on intake and milk production in cows grazing grass pasture. *J. Dairy Sci.* 78:154–160.
- Hongerholt D. D. e Muller L. D. 1998.** Supplementation of Rumen-Undegradable Protein to the Diets of Early Lactation Holstein Cows on Grass Pasture. *J. Dairy Sci.* 81:2204–2214.
- http://www.dairyone.com/Publications/Improver/2008/April07_ImproverPage_web.pdf. Acedido a 4/12/2008.**
- Hutjens M. F. e Barmore J. M. 1995.** Milk urea nitrogen gives us another tool. *Hoards Dairyman.* 140-10 – p 401.
- Janicki, F.J e Stallings, C.C.1988.** Degradation of crude protein in forages determined by in vitro and in situ procedures. *J. Dairy Sci.* 71: 2440-2448
- Jarrige, R. 1988.** Ingestion et digestion des aliments. In: *Alimentation des Bovins Ovins & Caprins.* Ed. By Jarrige, R. INRA, Paris. PP 29-56

- Jonker, J.S., R.A.Kohn, e R.A. Erdman. 1998a.** Evaluating economic and environmental impacts of overfeeding protein to dairy cows in the Chesapeake bay drainage basin. *J. Dairy Sci.* 81 Suppl. 19 : 348
- Jonker, J.S. ; Kohn, R.A. e Erdman, R.A 1998b.** Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81: 2681-2692.
- Jonker, J.S.; Kohn, R.A. e Erdman, R.A 1999.** Milk urea nitrogen target concentrations for lactating dairy cows fed according to national Research Council recommendations. *J. Dairy Sci.* 82: 1261-1273.
- Jonker J.S, kohn, R.A,e Hight,J, 2001.** Use of milk Urea nitrogen to Improve Dairy Cow Diets. *J. Dairy Sci.* 85:939-946.
- Kauffman, A.J. e St-Pierre, N.R. 2001.** The relationship of milk urea nitrogen to urine nitrogen excretion in Holstein and Jersey cows. *J. Dairy Sci.* 84: 2284-2294
- Kohn, R.A, Dou, Z., Fergusson ,J.D., e Boston ,R.C. 1997.** A sensivity analysis of nitrogen losses from dairy farms. *Journal of Environment Management.* 50: 417-428
- Larson, S.F., Butler, W.R., e Currie, W.B. 1997.** Reduced Fertility Associated with Low Progesterone Postbreeding and Increased milk urea nitrogen in lactating Cows. *J. Dairy Sci.* 80:1288-1295.
- Leng, R.A. e Nolan, J.V. 1984.** SYMPOSIUM: Protein nutrition of the lactating dairy cow. Nitrogen metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 67: 1072-1089
- Lobo, M.A.G. 1993.** Presença de nitratos na água como consequência da actividade agropecuária. Universidade dos Açores – Departamento Ciências Agrárias -Terra Chã 193 51pp
- Lykos, T. e Varga, G.A. 1995.** Effects of processing method on degradation characteristics of protein and carbohydrate sources in situ. *J. Dairy Sci.* 7: 1789-1801
- MADRP (1997).** Código de Boas Práticas agrícolas para a protecção da água contra a poluição com nitratos de origem agrícola. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas, Lisboa.
- Martin, B., Coulon, J.B., Chamba, J.F., Bugaud, C. 1997.** Effect of milk urea content on characteristics of matured Reblochon cheeses. *Lait (1997).*Elsevier/Inra. 77, 505-514
- Matos, J.E.S. 1998.** Mamites- Aspectos práticos. *Revista Portuguesa de Buiatria* (Novembro 1998): 12-27
- Melendez, P.; Donovan, A. e Hernandez, J.1999.** Milk urea nitrogen and infertility in Florida Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 83: 459-463
- Messman, M.A.; Weiss w.P. e Ericksson D.O. 1992.** Effects of nitrogen fertilization and maturity of bromegrass on nitrogen and amino acid utilization by cows. *J. Animal Sci.* 70: 566-575
- Migilior, F.,Sewalem,A. Jamrozik, J., Lefebvre, D.M. e Moore, R.K. 2006.** Analysis of Milk Urea Nitrogen and Lactose and their Effect on Longevity in Canadian Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 89:4886-4894
- Miller, T.K., Hoover,W.H., Poland, W.W. Jr, Wood,R.W. e Thayne, W.V. 1990.** Effects of low and High Fill Diets on Intake and Milk Production in Dairy Cows, *J. Dairy Sci.* 1990. 73:2453-2459

- Mitchell, R.G., Rogers, G.W., Dechow, C.D., Callimont, J.E., Cooper, J.B. 2005.** Milk Urea Nitrogen Concentration: Heritability and Genetic Correlations with Reproductive Performance and Disease. *J. Dairy Sci.* 88: 4434-4440
- National Research Council. 2001.** Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 6th Rev. Ed. Nat. Academy of Sci., Washington, D.C.
- Ng-kwai-Hang, K.F., Hayes, J.F., Moxely, J.E. e Monardes, H.G. 1985.** Percentages of protein and non protein nitrogen with varying fat and somatic cells in bovine milk. *J. Dairy Sci.* 68: 1257-1262.
- Nigel B. 2000.** Nitrates in the human diet – good or bad? Artigo de Revisão. *Ann. Zootech.* 49: 207–216.
- Nocek, J.E. 1988.** In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: a review. *J. Dairy Sci.* 71: 2051-2069
- Nousiainen, J., Shingfield, K.J. e Huhtanen, P. 2004.** Evaluation of Milk Urea Nitrogen as a Diagnostic of Protein Feeding. *J. Dairy Sci.* 87: 386-398.
- Oltner, R., e H. Wiktorsson. 1983.** Urea concentrations in milk and blood as influenced by feeding varying amounts of protein and energy to dairy cows. *Livestock Prod. Sci.* 10:457-467
- Oltner, R., M. Emanuelson e H. Wiktorsson. 1985.** Urea concentrations in milk in relation to milk yield, live weight, lactation number and amount and composition of feed given to dairy cows. *Livestock Prod. Sci.* 12: 47-57.
- Paape, M. J.; Kral, A. J.; Desjardins, C.; Schultze, W. D.; Miller, R. H. 1973.** Failure of either corticosteroides or ACTH to increase the leukocyte concentration in milk. *Am. J. Vet. Res.* 34:353.
- Pereira, J.L.S. 2005.** Manipulação de efluentes de Bovinicultura. Pré-tratamento e aplicação ao solo. Dissertação para obtenção de grau de Mestre em Engenharia Sanitária na Faculdade de Ciências e tecnologia da Universidade Nova de Lisboa.
- Philpot, W. N. 1984.** Mastitis Management. 2nd Edition. Louisiana EUA.
- Philpot, W. N.; Nickerson, S. C. 1991.** Mastitis: Counter Attack. Babson Bros. Co. Naperville Illinois EUA.
- Politis, I. e Ng-Kwai-Hang, F. 1987.** Association Between Somatic Cell Count of Milk and Cheese-Yielding Capacity. *J. Dairy Sci.* 71:1720-1727.
- Radostits Otto M., Clive C. Gay, Kenneth W. Hinchcliff, e Constable P. D. 2007.** Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. 10th edition. Ed. Radostits. Publ. Saunders Elsevier Health Sciences. Edinburgh.
- Rajala-Schultz, Saville, J.A., Frazer, G.S. e Wittum, T.E. 2002.** Association Between Milk Urea Nitrogen and Fertility in Ohio Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 84:482-489.
- Raubertas, R. F., e G. E. Shook. 1982.** Relationship between lactation measures of somatic cell concentration and milk yield. *J. Dairy Sci.* 65:419.
- Rebhun, W.C. 1995.** Diseases of Dairy Cattle, William & Wilkins 1995: 295-303.
- Reneau, J. K 1985.** Using DHI Somatic Cell Counts. Proc. 24th. annual meeting. National Mastitis Control. Arlington, VA. 163-168. Espinasse, J.
- Reneau, J. K. 1986.** Effective use of dairy herd improvement somatic cell counts in mastitis control. *J. Dairy Sci.* 69: 708-1720.
- Reynolds, C.K. 1992.** Metabolism of nitrogenous compounds by ruminal liver. *Journal of Nutrition.* 122: 850-854

- Rodriguez, L.A., Stallings, C.C., Herbein, J.H. e McGilliard, M.L. 1997** .Diurnal Variation in Milk and Plasma Urea Nitrogen in Holstein and Jersey Cows in Response to Degradable Dietary Protein and Added Fat. J. Dairy Sci. 80:3368-3376
- Roseler, D.K.; Fergusson, J.D.; Sniffen, C.J. e Herrema, J. 1993.** Dietary protein Degradability Effects on Plasma and Milk Urea Nitrogen and Milk Nonprotein Nitrogen in Holstein cows. J. Dairy Sci. 76: 525-534
- Santos, J.Q. 1996.** Fertilização. Fundamentos da utilização dos adubos e correctivos 2ª Ed. By Publicações Europa América, Lisboa 442 pp.
- Schepers, A.J. e R.G.Meijer. 1998.** Evaluation of the utilization of dietary nitrogen by dairy cows based on urea concentrations in milk. J. Dairy Sci. 81: 579-584.
- Serieys, F. 1985.** Concentration cellulaire du lait individual de vache: Influence de l'etat d'infection mammaire, du numero, du stade de lactation et de la production laitière. Annual Rech. Vet. França 16(3): 255-261.
- Shuster, D. E. e R. J. Harmon, 1991a.** Lactating cows become partially refractory frequent intramammary endotoxin infusions: recovery of milk yield despite a persistently high somatic cell counts. Res. Vet. Sci. 51:272.
- Shuster, D. E., R. J. Harmon, J. A. Jackson, e R. W. Hemken. 1991b.** Suppression of milk production during endotoxin-induced mastitis in lactating dairy cows. Am. J. Vet. Res. 54:80.
- Shuster, D. E., R. J. Harmon, J. A. Jackson, e R. W. Hemken. 1991c.** Reduced lactacional performance following intravenous endotoxin administration to dairy cows. J. Dairy Sci. 74:3407.
- Silva, C. M 2006** Impacto do azoto em explorações leiteiras da Ilha Terceira, sujeitas a três níveis de adubação azotada- Dissertação de Mestrado em Produção Animal, UA Dep. Ciências Agrárias -Angra do Heroísmo.
- Smith, K. L., D. A. Todhunter, e P. S. Schoenberger. 1985.** Environmental mastitis: cause, prevalence, prevention. J. Dairy Sci. 68:1531.
- Soriano, F.D., C.E. Polan e V.N.Miller, 2001.** Supplementing pasture to lactating Holsteins fed a total mixed ration diet. J. of Dairy Sci. 84: 2460-2468.
- Tamminga, .1992.** Nutrition management of dairy cows as a contribution to pollution control. J. Dairy Sci. 75: 345-357
- Trindade, H.M.F. 1997.** Fluxos e perdas de azoto em explorações forrageiras intensivas de bovinicultura leiteira no Noroeste de Portugal. Tese de Doutoramento em Engenharia Agricola. Universidade de Trás- os Montes e Alto Douro. 213pp
- Van Duinkerken, G.; Ande, G.; Smiths, M.C.J.; Monteny, G.J. e Sebek, L.B.J. 2005.** Effect of rumen-degradable protein balance and forage type on bulk milk urea concentration and emission of amonia from dairy cow houses. J. Dairy Sci. 88: 1099-1112
- Van Vuuren, A. M., S. Tamminga, e R. S. Ketelaar. 1991.** *In sacco* degradation of organic matter and crude protein of fresh grass (*Lolium perenne*) in the rumen of grazing dairy cows. J. Agric. Sci. 116:429-439.
- Varga, G.A e W.H. Hoover, 1983.** Rate and extent of neutral detergent fiber degradation of feedstuffs in situ. J Dairy Sci. 66: 2109-2115.
- Ward G. E., e L. H. Schultz. 1972)** Relationship of somatic cells in quarter milk to type of bacteria and production. J. Dairy Sci. 55:1428.

- Wattiaux M. A., Nordheim, E. V. e Crump P. 2005.** Statistical Evaluation of Factors and Interactions Affecting Dairy Herd Improvement Milk Urea Nitrogen in Commercial Midwest Dairy Herds. *J. Dairy Sci.* 88:3020–3035.
- Wolter R. 2000.** Alimentation de la vache laitière. Ed. La France Agricole. França.
- World Health Organisation. 1985.** Health Hazards from Nitrates in Drinking Water. Geneva: WHO.

ANEXOS

I e II

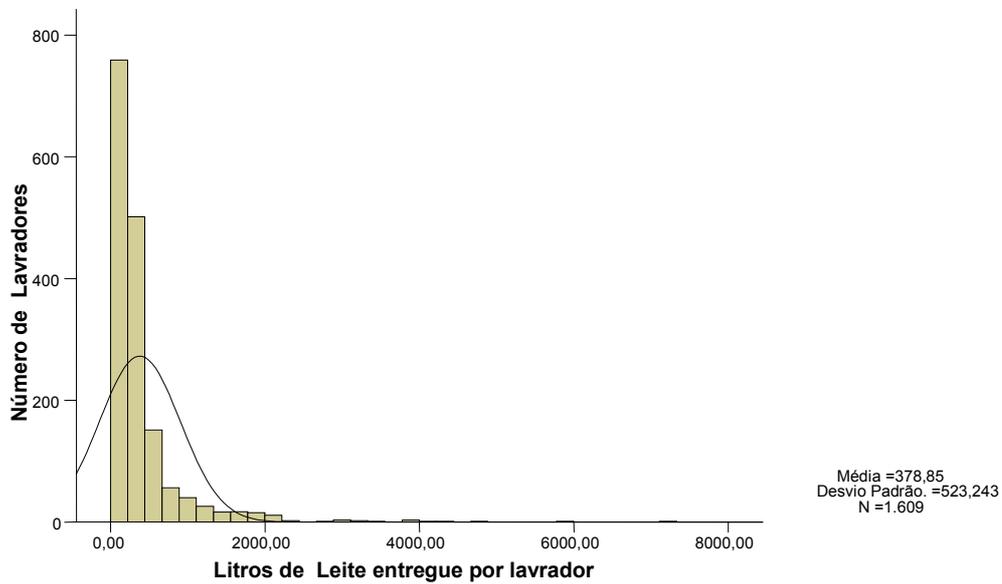


Figura 3- Histograma do Volume de leite entregue no mês de Julho em São Miguel (com curva normal)



Figura 4- Histograma do Volume de leite entregue no mês de Outubro em São Miguel (com curva normal)

III; IV; V

Estatística – Dados do mês de Julho de 2008

Statistics

	Ureia	Gordura	Proteina	CCS	Litragem
N Valid	1609	1609	1609	1609	1609
Missing	0	0	0	0	0
Mean	34,7586	3,7929	3,1995	511,6377	378,8527
Std. Error of Mean	,31149	,00915	,00320	10,61159	13,04443
Median	34,2000	3,7900	3,2000	406,0000	234,0000
Mode	34,20	3,70(a)	3,20	275,00	50,00
Std. Deviation	12,49470	,36692	,12819	425,65563	523,24270
Variance	156,118	,135	,016	181182,714	273782,925
Skewness	,415	,390	,498	5,453	4,938
Std. Error of Skewness	,061	,061	,061	,061	,061
Kurtosis	,335	,981	1,683	56,200	38,368
Std. Error of Kurtosis	,122	,122	,122	,122	,122
Range	79,80	2,96	1,04	6472,00	7144,00
Minimum	3,30	2,55	2,75	21,00	2,00
Maximum	83,10	5,51	3,79	6493,00	7146,00

a Multiple modes exist. The smallest value is shown

Correlations

		ureia	Proteina
ureia	Pearson Correlation	1	,114(**)
	Sig. (2-tailed)		,000
	N	1612	1612
Proteina	Pearson Correlation	,114(**)	1
	Sig. (2-tailed)	,000	
	N	1612	1612

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Correlations

		ureia	Gordura
ureia	Pearson Correlation	1	,112(**)
	Sig. (2-tailed)		,000
	N	1612	1612
Gordura	Pearson Correlation	,112(**)	1
	Sig. (2-tailed)	,000	
	N	1612	1612

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

VI; VII e VIII

Correlations

		ureia	CCS
ureia	Pearson Correlation	1	-,023
	Sig. (2-tailed)		,357
	N	1612	1612
CCS	Pearson Correlation	-,023	1
	Sig. (2-tailed)	,357	
	N	1612	1612

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Correlations

		Ureia	Litragem
Ureia	Pearson Correlation	1	,055(*)
	Sig. (2-tailed)		,027
	N	1609	1609
Litragem	Pearson Correlation	,055(*)	1
	Sig. (2-tailed)	,027	
	N	1609	1609

* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Estatísticas - Dados do mês de Outubro

Statistics

		Litragem	Ureia	Gordura	Proteina	CCS
N	Valid	1607	1606	1607	1607	1607
	Missing	0	1	0	0	0
Mean		294,7380	46,3983	3,9711	3,3383	449,1829
Std. Error of Mean		11,78391	,48763	,01245	,00458	12,29988
Median		162,0000	46,4000	3,9800	3,3500	351,0000
Mode		50,00	45,90	3,85	3,38	229,00
Std. Deviation		472,38629	19,54193	,49898	,18342	493,07038
Variance		223148,811	381,887	,249	,034	243118,402
Skewness		5,704	,090	,052	-,026	11,250
Std. Error of Skewness		,061	,061	,061	,061	,061
Kurtosis		47,775	-,540	,154	1,126	206,253
Std. Error of Kurtosis		,122	,122	,122	,122	,122
Range		6517,00	107,30	3,57	1,48	11627,00
Minimum		3,00	1,80	2,29	2,69	9,00
Maximum		6520,00	109,10	5,86	4,17	11636,00

IX; X; XI e XII

Correlations

		Ureia	Litragem
Ureia	Pearson Correlation	1	-,141(**)
	Sig. (2-tailed)		,000
	N	1606	1606
Litragem	Pearson Correlation	-,141(**)	1
	Sig. (2-tailed)	,000	
	N	1606	1607

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Correlations

		Ureia	Gordura
Ureia	Pearson Correlation	1	,089(**)
	Sig. (2-tailed)		,000
	N	1606	1606
Gordura	Pearson Correlation	,089(**)	1
	Sig. (2-tailed)	,000	
	N	1606	1607

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Correlations

		Ureia	Proteina
Ureia	Pearson Correlation	1	,088(**)
	Sig. (2-tailed)		,000
	N	1606	1606
Proteina	Pearson Correlation	,088(**)	1
	Sig. (2-tailed)	,000	
	N	1606	1607

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Correlations

		Ureia	CCS
Ureia	Pearson Correlation	1	-,014
	Sig. (2-tailed)		,586
	N	1606	1606
CCS	Pearson Correlation	-,014	1
	Sig. (2-tailed)	,586	
	N	1606	1607

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).