

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CURSO DE ZOOTECNIA

SIDNEIA DE PAULA

**LEVEDURAS VIVAS E INATIVADAS NA NUTRIÇÃO DE VACAS LEITEIRAS:
UMA ANÁLISE COMPARATIVA**

**CURITIBA
2015**

SIDNEIA DE PAULA

**LEVEDURAS VIVAS E INATIVADAS NA NUTRIÇÃO DE VACAS LEITEIRAS:
UMA ANÁLISE COMPARATIVA**

Trabalho de Conclusão do Curso de Gradação em Zootecnia da Universidade Federal do Paraná, apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Zootecnia.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo de Almeida

Orientador do Estágio Supervisionado:
Eng. Agr. Dr. Rafael
Canonenco de Araújo

**CURITIBA
2015**

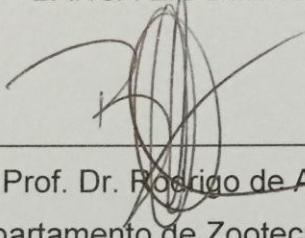
TERMO DE APROVAÇÃO

SIDNEIA DE PAULA

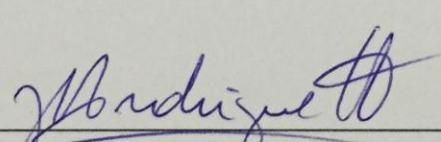
LEVEDURAS VIVAS E INATIVADAS NA NUTRIÇÃO DE VACAS LEITEIRAS: UMA ANÁLISE COMPARATIVA

Trabalho de conclusão de curso aprovado como requisito parcial para obtenção do
grau de Bacharel em Zootecnia pela Universidade Federal do Paraná.

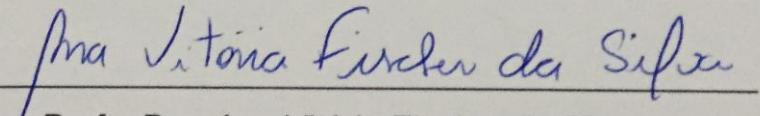
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Rodrigo de Almeida
Departamento de Zootecnia - UFPR
Presidente da Banca



Prof. Dr. José Luciano Andriguetto
Departamento de Zootecnia - UFPR



Profa. Dra. Ana Vitória Fischer da Silva
Departamento de Fisiologia - UFPR

Curitiba
2015

*Dedico este trabalho a todos que
ajudaram a construir o meu sonho.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre presente e por sempre me dar forças para continuar!

Ao meu esposo Mauricio e meu filho Mário Augusto, pelo amor, pela compreensão, pelo incentivo e que me perdoem pelo tempo que deixei de dedicar a vocês... Eu também me orgulho de vocês!

Aos meus pais que sempre acreditaram em um futuro melhor para mim e que, acima de tudo, me apoiaram para chegar até aqui. E aos meus irmãos que apostaram nessa conquista comigo!

As minhas amigas de jornada: Lorena, Bruna, Lorrayne e Amanda. Sem vocês, esta caminhada seria muito mais pesada e sem graça. Obrigada pelo tempo juntas, pelos sorrisos, pelas divergências e pelo carinho. Um futuro brilhante nos espera!

Ao professor Rodrigo, pelo profissionalismo e dedicação, por me aceitar como monitora e orientada, pela confiança e por esses anos de trabalho e aprendizado. Obrigada!

Ao Rafael, pela paciência, pela dedicação, pelas longas e boas conversas e principalmente pela oportunidade oferecida e o grande aprendizado. Obrigada pela força e incentivo quando eu achava que não podia mais! Você foi essencial! Obrigada por tudo!

Ao todo o pessoal da GRASP pelo carinho e pela atenção, e em especial a Anne, Carol, Mari, Bruna e Kathira, vocês foram ótimas companhias durante o estágio!

A todos os meus professores, em especial Ananda Félix, que me fez acreditar em mim mesma, a Laila T. Dias que me abriu os horizontes, a Elaine Benelli, que instigou os meus conhecimentos e me fez querer continuar...

Enfim a todos os meus mestres que passaram pela minha vida e acrescentaram algo. A todos os que me ensinaram a questionar e não somente a ter respostas; a mudar minha opinião e a rever meus pontos de vista...

“E lhes enxugará dos olhos toda a lágrima, e a morte já não existirá, já não haverá luto, nem pranto, nem dor, porque as primeiras coisas já passaram”.

Ap. 21.6

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | | |
|------------|--|----|
| Figura 1. | Fotos de microscopia eletrônica de células de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 14 |
| Figura 2. | Esquema da fabricação de produtos derivados da levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 18 |
| Figura 3. | Estrutura da parede celular da levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 23 |
| Figura 4. | Efeitos de diferentes cepas de <i>S. cerevisiae</i> vivas na acumulação de lactato <i>in vitro</i> , com conteúdo ruminal de 3 vacas canuladas alimentadas com feno e concentrado (50:50)..... | 24 |
| Figura 5. | Efeitos de diferentes cepas de LV nas taxas de degradação de fibra (mg/h) <i>in vitro</i> com líquido ruminal de bovinos | 25 |
| Figura 6. | Flutuação individual de pH ruminal durante 8 dias. NY - sem suplementação de LV; YS com suplementação de LV..... | 29 |
| Figura 7. | Vias de produção de metano. Em vermelho a via acetoclástica, em azul via hidrogenotrófica e em verde a via metilotrófica | 35 |
| Figura 8. | Composição básica de um nucleotídeo..... | 37 |
| Figura 9. | Efeitos do fornecimento de YC (Cultura de levedura) na produção de leite em dias pós-parto durante o estresse calórico. | 39 |
| Figura 10. | Efeitos de várias dosagens produtos da fermentação de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (SCFP): 0 G (controle), 56g e 112g de SCFP/dia em vacas em transição (n= número de animais) e a concentração de (A) IgG, (B), IgM e (c) IgA..... | 44 |
| Figura 11. | Efeitos de várias dosagens produtos da fermentação de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (SCFP): 0 G (controle), 56g e 112g de SCFP/dia em vacas em transição (n= número de animais) e a concentração de (A) IgG, (B), IgM e (c) IgA..... | 46 |
| Figura 12. | Gráfico com resultado de contagem de células somáticas por semana. (Control) = Dieta base controle, (YC) Dieta base com CL; (EHY+YC) Dieta base com CL + CL enzimaticamente hidrolisada | 47 |
| Figura 13. | A influência da temperatura no rendimento proteico durante a autólise de levedura de cervejaria | 48 |
| Figura 14. | Fachada do escritório – setor administrativo da GRASP – Mossunguê – Curitiba/PR | 52 |

| | |
|---|----|
| Figura 15. Fachada do parque fabril da GRASP – Campo do Santana – Curitiba PR | 52 |
| Figura 16. Mapa de atuação da GRASP no Brasil e alguns países da América Latina | 54 |
| Figura 17. Mapa de atuação da GRASP no Mercado Internacional..... | 54 |
| Figura 18. Centro de Estudos da Resposta Imunológica em Aves / LABMOR – UFPR | 55 |
| Figura 19. Logotipo da certificação de qualidade internacional GMP+..... | 55 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Percentagem de produtores de leite usuários ou não de aditivos nos EUA (Hoard's Dairyman Magazine Survey)..... | 13 |
| Tabela 2. Composição centesimal da levedura íntegra, autolisada e extrato de derivados de destilaria de álcool e de cervejaria e de levedura viva..... | 20 |
| Tabela 3. Aminoácidos essenciais de levedura íntegra de destilaria de álcool e cervejaria e seus derivados, leite, bactérias e farelo de soja | 21 |
| Tabela 4. Composição de minerais das leveduras íntegras e autolisadas de destilaria de álcool e cervejaria e do leite | 22 |
| Tabela 5. Resultado de meta-análise com uso de CL e LV na produção de leite e seus principais componentes em comparação ao controle | 32 |
| Tabela 6. Resultado de meta-análise no CMS e digestibilidade de MS comparando tratamentos de LV e CL com o controle | 33 |
| Tabela 7. Contribuição do consumo ruminal de O ₂ pelas bactérias e protozoários no rúmen | 34 |
| Tabela 8. Exigência de vitaminas do complexo B de algumas bactérias ruminais... | 41 |
| Tabela 9. Perfil vitamínico de levedura oriunda de cervejaria | 42 |
| Tabela 10. Índices de Temperatura e Umidade e efeitos de estresse térmico | 43 |
| Tabela 11. Resumo dos custos de alguns produtos comerciais de leveduras | 49 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|------|---|
| GRAS | Generally Recognized as Safe |
| NRC | National Research Council |
| LV | Levedura Viva |
| LI | Levedura Inativada |
| CL | Cultura de Leveduras |
| UFC | Unidade Formadora de Colônias |
| UV | Ultra Violeta |
| LIA | Levedura Inativada Autolisada |
| EX | Extrato de Levedura |
| PC | Parede Celular de Levedura |
| AGCC | Ácidos Graxos de Cadeia Curta |
| DNA | Ácido Desoxirribonucleico |
| RNA | Ácido Ribonucleico |
| CMS | Consumo de Matéria Seca |
| DMS | Digestibilidade de Matéria Seca |
| MS | Matéria Seca |
| DEL | Dias em Leite |
| BEN | Balanço Energético Negativo |
| NNP | Nitrogênio Não Proteico |
| PABA | Ácido Paraminobenzóico |
| ITU | Índice de Temperatura e Umidade |
| APCC | Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle |
| MAPA | Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento |
| UFPR | Universidade Federal do Paraná |

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 13 |
| 2. OBJETIVO | 16 |
| 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 17 |
| 3.1 Processos industriais de obtenção da <i>S. cerevisiae</i> viva e inativada..... | 19 |
| 3.2 Perfil nutricional e composição centesimal da levedura <i>S. cerevisiae</i> | 20 |
| 3.3 Diferenciação entre cepas <i>S. cerevisiae</i> atuantes na fermentação ruminal | 23 |
| 3.4 Modo de ação da <i>S. cerevisiae</i> no rúmen de vacas leiteiras..... | 26 |
| 3.4.1 Aumento ou manutenção do pH ruminal | 27 |
| 3.4.2 Alterações na fermentação ruminal..... | 29 |
| 3.4.2.1 Proteólise e concentração ruminal de amônia..... | 29 |
| 3.4.2.2 Alteração na proporção de AGCC e a relação acetato:propionato..... | 30 |
| 3.4.3 Aumento na produção de leite..... | 31 |
| 3.4.4 Efeitos no consumo de matéria seca e aumento na digestibilidade | 33 |
| 3.4.5 Redução na concentração de O ₂ no rúmen..... | 34 |
| 3.4.6 Concentração de CH ₄ e produção de gases..... | 35 |
| 3.4.7 Alterações na população e cofatores de crescimento para os microorganismos ruminais..... | 37 |
| 3.4.7.1 Nucleotídeos | 37 |
| 3.4.7.2 Malato e outros ácidos orgânicos | 38 |
| 3.4.7.3 Vitaminas do complexo B | 40 |
| 3.4.8 Redução do estresse calórico | 42 |
| 3.4.9 Aporte ao Sistema Imunológico..... | 45 |
| 3.4.10 Uso de <i>S. cerevisiae</i> em rações peletizadas..... | 48 |
| 3.4.11 Análise de custo-benefício das LV e LI | 49 |
| 4. CONCLUSÃO | 50 |
| 5. RELATÓRIO DE ESTÁGIO | 51 |
| 5.1 Plano de Estágio | 51 |
| 5.2 Empresa do Estágio | 51 |
| 5.2.1 Histórico | 52 |
| 5.2.2 Missão | 53 |
| 5.2.3 Visão | 53 |
| 5.2.4 Produtos | 53 |
| 5.2.5 Organograma | 54 |
| 5.2.6 Mercado de atuação..... | 54 |
| 5.2.7 Controle de Qualidade e Certificações..... | 55 |
| 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS | 56 |
| REFERÊNCIAS..... | 57 |
| ANEXOS | 67 |
| Anexo 1. Termo de Compromisso de Estágio | 67 |
| Anexo 2. Plano de Estágio..... | 68 |
| Anexo 3. Ficha de Frequência de Estágio..... | 69 |
| Anexo 4. Ficha de Frequência de Estágio..... | 70 |
| Anexo 5. Ficha de Frequência de Estágio..... | 71 |

RESUMO

A levedura *Saccharomyces cerevisiae*, presente na alimentação humana e na produção de vinhos, pães, cerveja e álcool, vem ganhando espaço como aditivo estimulador de fermentação em ruminantes. O presente trabalho tem o objetivo de esclarecer os processos de obtenção das leveduras vivas e inativadas e seus subprodutos, os efeitos no rúmen e seus reflexos na produtividade, finalizando com uma análise comparativa entre os resultados e a relação custo-benefício. Comparando os efeitos entre as leveduras vivas e as inativadas, conclui-se que as principais diferenças obtidas devem-se às diferentes cepas utilizadas, ao meio de cultura em que a levedura foi multiplicada e as diferenças entre as dietas e o estado fisiológico dos animais em que foram utilizadas. Essa análise foi prontamente bem vista pela empresa GRASP, sediadora do estágio, pois vem a corroborar com seus produtos comercializados e em desenvolvimento. Durante o estágio obrigatório, foi possível acompanhar os processos fabris de produção de aditivos para nutrição animal, o contato com profissionais da área, além da revisão de literatura científica na área de nutrição de ruminantes e de outras atividades relacionadas com a área de Pesquisa e Desenvolvimento. O estágio proporcionou grande oportunidade para o conhecimento em literatura e escrita científica e o crescimento em conhecimento prático no desenvolvimento de produtos para nutrição animal.

Palavras-chaves: aditivos, nutrição, *Saccharomyces cerevisiae*, vacas leiteiras.

1. INTRODUÇÃO

A manipulação da microbiota ruminal para maximizar a eficiência de produção das vacas leiteiras é um desafio para nutricionista e pesquisadores, chamando também a atenção das indústrias para o desenvolvimento de novos aditivos (YOON & STERN, 1995). Com o crescimento constante e oferta de vários aditivos no mercado, uma pesquisa realizada pela revista americana Hoard's Dairyman Magazine - importante no setor leiteiro norte-americano - exemplifica o uso de aditivos na produção de gado leiteiro, listando os mais utilizados (Tabela 1).

Tabela 1. Percentagem de produtores de leite que usam aditivos nos EUA (2013 Hoard's Dairyman Magazine Survey)

| Aditivo | 2006 | 2014 (Previsão) |
|--------------------------------------|------|-----------------|
| Tamponantes de pH | 41% | 40% |
| Leveduras vivas/cultura de leveduras | 28% | 27% |
| Monensina sódica | 15% | 21% |
| Niacina | 9% | 11% |
| Probióticos | 11% | 13% |
| Adsorventes de micotoxinas | 11% | 22% |
| Produtos aniônicos | 3% | 6% |
| Não usa | 11% | 10% |

Adaptado de HUTJENS, 2013.

Os EUA são referência mundial no uso de tecnologia e desenvolvimento para incremento de produtividade em gado leiteiro e o Brasil tem acompanhado essa evolução. Dentre os aditivos citados, produtos a base de leveduras estão se firmando no mercado brasileiro na alimentação de vacas lactantes e secas.

Os benefícios das leveduras são conhecidos em medicina humana há muito tempo. Utilizada desde o começo do século 20, a levedura *Saccharomyces boulardii* é eficaz na prevenção e no tratamento de distúrbios gastrointestinais e seu uso é considerado seguro (VANDENPLAS et al., 2015).

As leveduras são organismos microscópicos unicelulares, eucariotos, pertencentes ao Reino Fungi, com ampla distribuição mundial. Uma de suas características é adaptar-se metabolicamente ao meio para a fermentação de açúcares em presença ou ausência de oxigênio (MAGNANI & CASTRO-GOMÉZ, 2008).

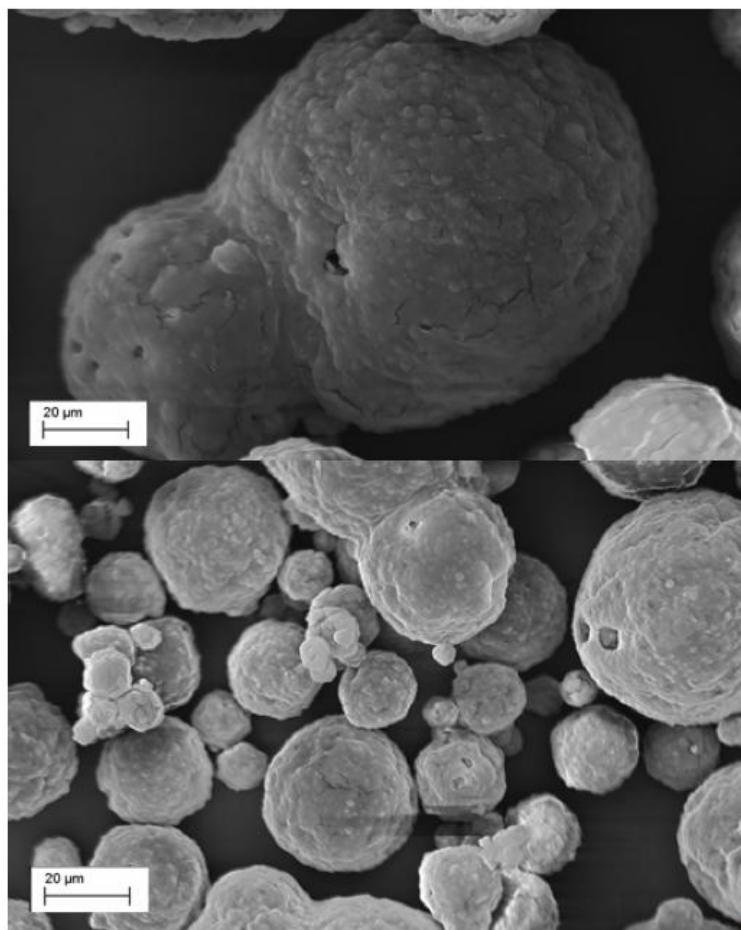


Figura 1. Fotos de microscopia eletrônica de varredura de células de *Saccharomyces cerevisiae* autolisada.

Fonte: GOMIDE, 2012

Na nutrição de animais de produção, a principal levedura utilizada é a *Saccharomyces cerevisiae*, conhecida como “levedura de pão” (Figura 1). Em uso

industrial, cepas específicas de *S. cerevisiae* são empregadas na produção de cerveja, de etanol automotivo e vinho, com a produção de álcool etílico como metabólito final de fermentação de açúcares.

Sendo registrada como produto seguro - “Generally Recognized as Safe” (GRAS) para uso na nutrição animal, a *S. cerevisiae* e suas diversas cepas são alvo de pesquisa e desenvolvimento de várias empresas de nutrição animal no mundo sendo comercializadas tanto como probióticos (também chamados de Direct Feed Microbials ou prebióticos).

O termo Direct Feed Microbials foi adotado nos EUA para definir aditivos à base de microorganismos - bactérias ou fungos – vivos usados como melhoradores de desempenho de produção, alteradores da fermentação ruminal ou auxiliadores na utilização de nutrientes. (NRC, 2001; DENEV et al., 2007). As leveduras inativadas íntegras ou autolisadas e/ou seus subprodutos, são considerados prebióticos, contendo carboidratos não-digeríveis que favorecerem as populações bacterianas benéficas à saúde animal (SANTOS & GRECO, 2012).

No mercado existem várias opções de produtos à base de leveduras para nutrição animal. Produtos desenvolvidos com leveduras vivas, com leveduras inativadas, sendo comercializados ou não com seu meio de cultura, tornam-se opções para melhora de desempenho, porém geram dúvidas quanto ao seu uso e seu custo-benefício.

Com o intuito de esclarecer alguns pontos com relação aos produtos da levedura *S. cerevisiae*, nesta revisão serão avaliados e comparados os efeitos das leveduras vivas e inativadas, referentes aos seus benefícios e resultados obtidos em produtividade em bovinos leiteiros.

Como empresa participante no mercado de aditivos, atuando com produtos a base de *S. cerevisiae* inativada, subproduto da indústria de etanol automotivo, a empresa GRASP Indústria e Comércio Ltda, com sede em Curitiba – PR, foi sede deste estágio. Esta revisão servirá de modo pontual para a empresa de modo a situar os seus produtos e abrir caminhos para desenvolvimento de novas oportunidades.

2. OBJETIVO

O presente trabalho tem o objetivo de esclarecer os processos de obtenção das leveduras vivas e inativadas e seus subprodutos, os efeitos no rúmen e seus reflexos na produtividade, finalizando com uma análise comparativa entre os resultados e a relação custo-benefício.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Produtos à base de leveduras são comumente usados tanto na produção animal quanto na alimentação humana. Na produção animal, tanto em herbívoros (ruminantes e não ruminantes) quanto em onívoros, a *S. cerevisiae* produz efeitos benéficos na população microbiana gastrointestinal, refletindo em melhorias na produtividade e na saúde em geral. Na bovinocultura leiteira, foco dessa revisão, a recomendação de uso das leveduras é principalmente em períodos de estresse ambiental e mudanças dietéticas (HUTJENS, 2012).

Dois principais produtos oriundos de *S. cerevisiae* são comercializados para a inclusão em dietas: as leveduras vivas secas (LV) (incluindo ou não seu meio de cultura) e as leveduras inativadas (LI) e seu meio de cultura secos, chamadas também de cultura de leveduras (CL). Ainda há variações conforme a empresa fabricante e outros subprodutos decorrentes do processo de obtenção das leveduras.

As LV são caracterizadas pela alta concentração de células viáveis ($> 10^9$ UFC/g), onde é preservada a viabilidade celular e atividade metabólica (CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 2008). Após a multiplicação das leveduras em seu meio de cultura, estas são purificadas, secas e embaladas ou podem ser secas juntamente com seu meio de cultura.

As LI geralmente são oriundas normalmente das indústrias de cervejaria e destilaria, podendo ser autolisadas ou íntegras. A autólise se dá por meio de processos químicos (detergentes, hidróxido de sódio), físicos (temperatura, radiação UV, rompimento mecânico) ou enzimáticos. A biomassa formada contém os componentes intracelulares e a parede celular. A partir desse processo, podemos ter três tipos de produtos: levedura inativada autolisada (LIA), extrato de levedura (EX) (somente conteúdo celular) e parede de levedura (PC) (sem conteúdo celular), como descrito na Figura 2.

BIOMASSA (Destilaria ou Cervejaria) LIMPA OU LEVEDURAS FRESCAS

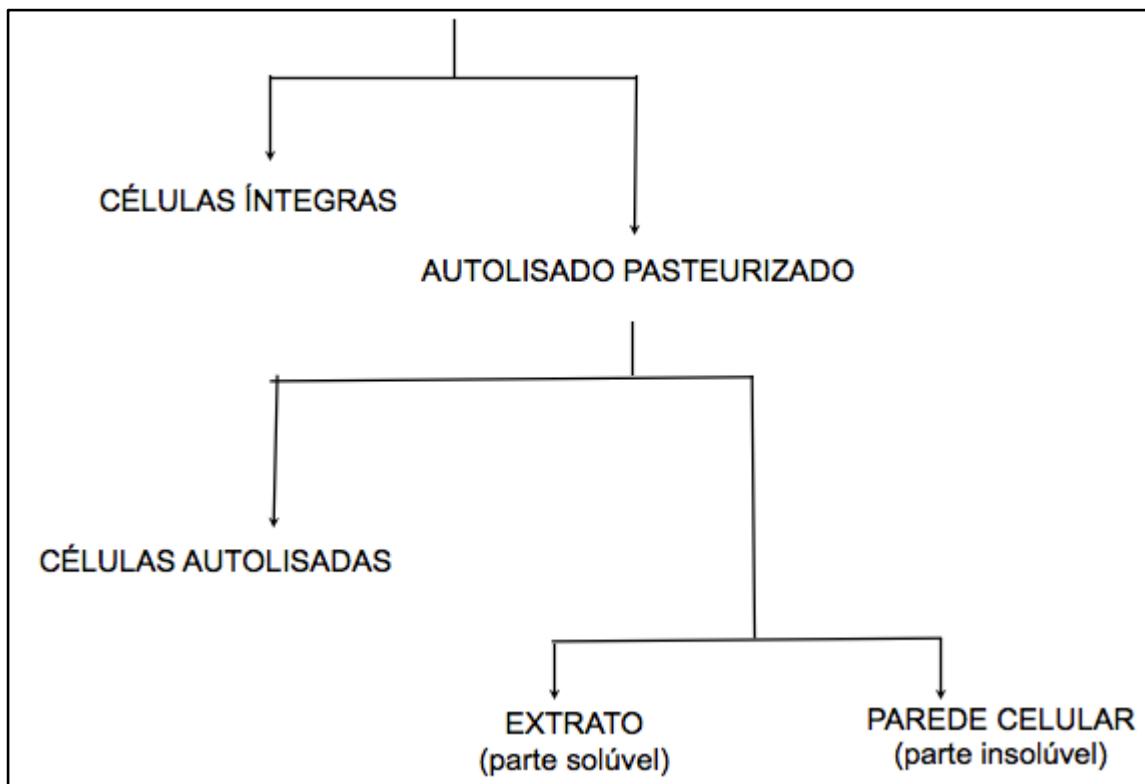
Saccharomyces cerevisiae

Figura 2. Esquema da fabricação de produtos derivados da levedura *Saccharomyces cerevisiae*.
Adaptado de ROBAK, 2013 / SGARBIERI, 1999.

Os efeitos comuns à *S. cerevisiae* em vacas leiteiras ocorrem principalmente devido às alterações na população microbiana ruminal. Com essas mudanças, proporciona-se o crescimento de microorganismos celulolíticos, favorecendo também as bactérias consumidoras de lactato, mantendo o pH mais estável. Por consequência, ocorre o aumento no consumo de alimentos e na sua digestibilidade, na produção dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no rúmen e na produção de leite (DESNOYERS et al., 2009; CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 2008; POPPY et al., 2012). Apesar dos efeitos encontrados na literatura, o(s) mecanismo(s) pelo(s) qual(is) isso ocorre não está totalmente elucidado (HRISTOV et al., 2010; BITENCOURT et al., 2011; SANTOS & GRECO, 2012).

Dentre os efeitos citados acima, é importante que seja considerado o tipo de dieta utilizado, a relação concentrado:volumoso, além do estado fisiológico dos animais (PARDO-GAMBOA et al., 2011; CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 2008) para uma comparação mais precisa.

A inclusão de LV ou LI em dietas de bovinos leiteiros de alta produção tem gerado discussões entre os pesquisadores e nutricionistas quanto à eficácia ruminal e se os efeitos obtidos ocorrem com o uso de ambas o que será discutida nessa revisão.

3.1 Processos industriais de obtenção da *S. cerevisiae* viva e inativada.

Por conta de vários produtos oriundos de leveduras *S. cerevisiae* para nutrição animal, serão discutidos os processos industriais para obtenção de LV e LI.

Na produção de LV, ocorre a propagação de células viáveis pela multiplicação da levedura em seu meio de cultura (geralmente oxigênio, nitrogênio e carboidratos). Esse processo é exclusivo para produção de LV, chamado de fermentação primária. Ao atingir a concentração desejada de leveduras, ocorre a centrifugação e a secagem em temperatura que não afeta metabolicamente as leveduras, mantendo sua viabilidade (STONE, C. W.; 2006).

Produtos de LV puros são compostos somente de células vivas secas e contém mínimo de $1,5 \times 10^{10}$ UFC/g. Produtos que contenham células vivas e seu meio de cultura garantem no mínimo $5,0 \times 10^9$ UFC/g (LYNCH & MARTIN, 2011).

As LI são oriundas do excedente produzido pela indústria de etanol e de cervejaria. As células de leveduras são inativadas termicamente e poderão ser utilizadas integralmente juntamente com seu meio de cultura (CL) sem o residual alcoólico após secas ou processadas para obtenção de seus derivados (EX e PC).

A CL consiste não somente de células inativadas e seu meio de cultivo, como também metabólitos produzidos no processo de fermentação e algumas células ainda viáveis mas em número não significativo.

3.2 Perfil nutricional e composição centesimal da levedura *S. cerevisiae*

A *S. cerevisiae*, como subproduto das indústrias de cervejaria e destilaria de álcool, pode ser utilizada como fonte proteica nas dietas, além de ser rica em vitaminas do complexo B, ácidos nucléicos (DNA e RNA) e minerais (principalmente fósforo, potássio, cálcio, magnésio, selênio e zinco) (FERREIRA, 2010; PARDO-GAMBOA, 2011). O valor proteico encontra-se entre 30% e 70%, como mostrado na Tabela 2, com o comparativo entre LI, LA e EX provenientes das indústrias de cervejaria e destilaria de álcool e LV. Possui também elevado teor de vitaminas do complexo B, especialmente B₁, B₂, B₆ e B₉ (PINTO et al., 2013).

Tabela 2. Composição centesimal da levedura íntegra, autolisada e extrato de derivados de destilaria de álcool e de cervejaria e de levedura viva.

| Componente (% MS) | Destilaria de álcool ¹ | | | Cervejaria ² | | | Levedura Viva ³ |
|--|-----------------------------------|------------------------|---------|-------------------------|------------------------|---------|----------------------------|
| | Levedura íntegra | Levedura autolisada | Extrato | Levedura íntegra | Levedura autolisada | Extrato | |
| Proteína Bruta (N x 5,8 [*]) | 39,6 | 40,4 | 50,7 | 48,7 | 46,5 | 61,5 | >40*** |
| Fibra Total | 31,4 | 31,2 | 3,3 | 24,4 | 25,0 | 2,7 | 35 – 45 |
| Cinzas | 4,6 | 6,2 | 11,7 | 8,6 | 8,8 | 12,5 | 5 – 7 |
| Lipídios Totais | 0,5 | 1,2 | 0,4 | 3,3 | 3,3 | 1,9 | 5 – 7 |
| Ácidos nucléicos | 9,0 | 5,6 | 8,3 | 5,7 | 7,9 | 6,9 | NA |
| Não determinado ^{**} | 14,9 | 15,4 | 25,6 | 10,6 | 10,8 | 19,2 | NA |

* De acordo com normas da AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 1990.

** Não determinado = (ENN) + (parte do NNP)

1 Adaptado de YAMADA et al., 2003.

2 Adaptado de SGARBIERI et al., 1999.

3 Informação disponibilizada por produto comercial.

*** Proteína N x 6,25.

NA: não apresentado.

O perfil de aminoácidos das leveduras pode diferir de acordo com o processo de fabricação - se células íntegras, autolisadas ou extrato. Na Tabela 3 é feito um comparativo do perfil de aminoácidos da *S. cerevisiae* obtida da indústria de cervejaria e destilaria de álcool com o perfil da proteína do leite, microbiana ruminal e do farelo de soja. O perfil de aminoácidos listados na tabela são os considerados essenciais (AE): arginina (Arg), histidina (His), isoleucina (Ile), leucina (Leu), lisina (Lys), metionina (Met), fenilalanina (Phe), treonina (Thr), triptofano (Trp) e valina (Val) (NRC, 2001).

Tabela 3. Aminoácidos essenciais de levedura íntegra de destilaria de álcool e cervejaria e seus derivados, leite, bactérias e farelo de soja.

| Item | Arg | His | Ile | Leu | Lys | Met | Phe | Thr | Trp | Val |
|---|------|-----|------|------|------|-------|-------|------|-----|------|
| % do total de AAE | | | | | | | | | | |
| Destilaria de Álcool¹ | | | | | | | | | | |
| Levedura íntegra | NA | 4,2 | 4,2 | 6,0 | 7,8 | 2,4 * | 6,5** | 4,7 | 1,2 | 4,8 |
| Levedura autolisada | NA | 2,7 | 4,7 | 6,7 | 9,0 | 2,7 * | 7,4** | 5,2 | 1,5 | 5,4 |
| Extrato de levedura | NA | 2,4 | 3,9 | 5,6 | 7,0 | 2,3 * | 6,4** | 3,7 | 1,1 | 4,6 |
| Cervejaria² | | | | | | | | | | |
| Levedura íntegra | 4,1 | 2,1 | 5,6 | 8,9 | 7,1 | 2,5 | 5,3 | 6,2 | 1,5 | 6,2 |
| Levedura autolisada | 2,4 | 3,2 | 4,9 | 7,8 | 9,5 | 1,2 | 5,0 | 5,8 | 1,6 | 5,9 |
| Extrato de levedura | 1,0 | 3,0 | 5,7 | 8,1 | 8,6 | 1,3 | 4,7 | 5,2 | 1,3 | 6,8 |
| Leite ³ | 7,2 | 5,5 | 11,4 | 19,5 | 16,0 | 5,5 | 10,0 | 8,9 | 3,0 | 13,0 |
| Bactérias ³ | 10,2 | 4,0 | 11,5 | 16,3 | 15,8 | 5,2 | 10,2 | 11,7 | 2,7 | 12,5 |
| Farelo de Soja ³ | 16,2 | 6,1 | 10,1 | 17,2 | 13,9 | 3,2 | 11,6 | 8,7 | 2,8 | 10,2 |

1- Adaptado de YAMADA et al., 2003.

2 - Adaptado de SGARBIERI et al., 1992.

3 - Adaptado do NRC, 2001.

*Metionina + cisteína.

** Fenilalanina + tirosina.

NA – não apresentado

Conforme descrito na Tabela 3, tanto as leveduras de cervejaria quanto de destilaria possuem valores próximos de aminoácidos essenciais. Com relação à composição de minerais, a Tabela 4 relaciona os minerais disponíveis em LI e LV de cervejaria e destilaria de álcool com a do leite de vaca.

Tabela 4. Composição de minerais das leveduras íntegras e autolisadas de destilaria de álcool e cervejaria e do leite.

| Componente (Base MS) | Destilaria de Álcool ¹ | | Cervejaria ² | |
|------------------------------|-----------------------------------|---------------------|-------------------------|--------------------|
| | Levedura íntegra | Levedura Autolisada | Levedura Autolisada | Leite ³ |
| <u>Macrominerais (%)</u> | | | | |
| Cálcio | 0,51 | 0,82 | 0,41 | 0,11 |
| Fósforo | 0,88 | 0,86 | 1,18 | 0,12 |
| Potássio | 1,21 | 1,56 | 1,37 | 0,15 |
| Enxofre | 0,42 | 0,40 | NA | 0,32 |
| Magnésio | 0,58 | 0,71 | 0,16 | 0,12 |
| Cloro | 0,03 | 0,03 | NA | 0,10 |
| <u>Microminerais (mg/kg)</u> | | | | |
| Cobre | 56,58 | 43,84 | NA | NA |
| Ferro | 395,46 | 383,59 | NA | NA |
| Manganês | 57,38 | 63,78 | NA | NA |
| Selênio | 1,32 | 2,62 | NA | NA |

1 Adaptado de PARDO-GAMBOA et al., 2011.

2 Adaptado de SGARBIERI et al., 1999

3 Adaptado de Park et al., 2007.

NA – não apresentado.

Analizando a Tabela 4, pode-se notar que as leveduras possuem boa composição mineral, sendo consideradas boas fontes desses minerais.

Um elemento muito importante e amplamente estudado e empregado em nutrição e tratamento em humano como prebiótico é a parede celular de leveduras. No caso da *S. Cerevisiae*, a PC obtida após o processo de autólise e filtração é constituída de polissacarídeos estruturais composto por Beta-D-glicanas (48-60%), quitinas (0,6-2,7%) e manoproteínas (20-23%) (FUKUDA et al., 2009).

A PC está organizada em duas camadas principais, sendo a mais interna de glicanas e quitina e a mais externa de manoproteínas, em estrutura interconectada por ligações covalentes (MAGNANI & CASTRO-GOMEZ, 2008), como demonstrado em Figura 3. Essa estrutura representa cerca de 20% do peso total da levedura (OEZTUERK et al., 2005).

A estrutura da PC da *S. cerevisiae* representa um substrato apropriado para a fermentação microbiana ruminal, independente do status da levedura (OEZTUERK et al., 2005).

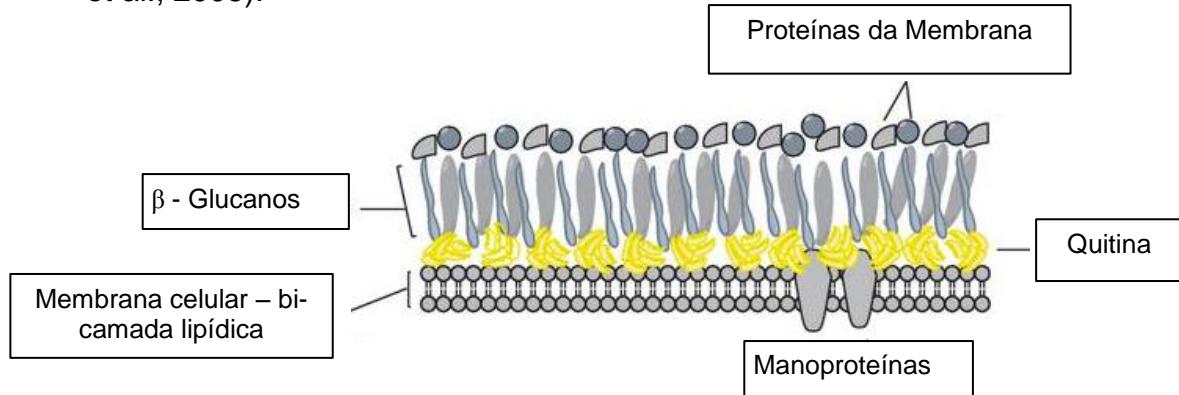


Figura 3. Estrutura da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

Os valores de composição centesimal e nutricionais da *S. cerevisiae* encontrados na literatura revelam grandes diferenças como mostradas nas tabelas acima. Essa heterogeneidade pode ser devida às diferenças de cepas, da natureza do substrato utilizado, concentração de sais no meio de cultura, das condições de fermentação, e por fim, do processamento e armazenamento das leveduras (PARDO-GAMBOA et al., 2011).

3.3 Diferenciação entre cepas *S. cerevisiae* atuantes na fermentação ruminal

A levedura *S. cerevisiae* é responsável por fermentação de vários produtos consumidos por humanos, como pão, vinho, cerveja e bebidas alcóolicas, além de participar na fermentação da cana-de-açúcar para produção de etanol. Estima-se a existência de aproximadamente 6 mil cepas, sendo que cerca de dois terços foram identificados e caracterizados (AA et al., 2006).

Na caracterização de cada cepa, além das diferenças físicas de formato, os intermediários metabólicos e os produtos finais podem ser diferenciados. Cada cepa é especializada em um tipo de fermentação, podendo ter ação mais rápida no consumo do carboidrato, produzir mais metabólicos, etc.

Para nutrição animal, muitos dos efeitos associados à *S. cerevisiae* descritos no modo de ação não foram encontrados em alguns estudos, sugerindo que os diferentes tipos de cepas utilizados possuiriam efeitos que não os esperados (NEWBOLD et al., 1996; CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 2008), atuando de forma diferente no ambiente ruminal.

Estudos *in vitro* avaliaram diferentes cepas de *S. cerevisiae* vivas e, dentre cinco estudadas apenas 3 obtiveram efeitos positivos sobre o crescimento da população bacteriana total, reagindo de forma diferente em uma população específica (NEWBOLD et al., 2005; CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 2008).

Outro efeito relacionado às cepas específicas seria sobre a redução de lactato ruminal. Em teste realizado *in vitro*, avaliando diferentes cepas de LV, observou-se que algumas das cepas testadas favoreceriam as bactérias que metabolizavam o lactato, conforme demonstrado em Figura 4 (CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 2008), onde é demonstrado que ocorreu uma menor concentração de lactato ruminal por algumas cepas, frente ao grupo controle sem levedura.

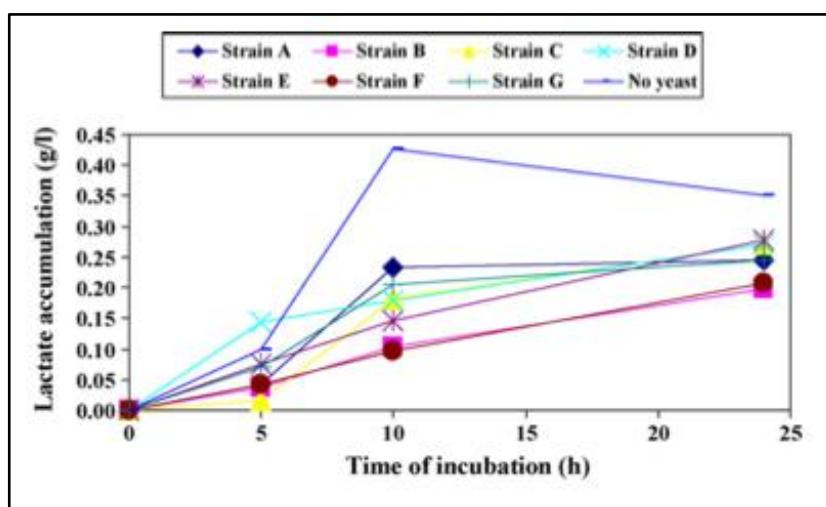


Figura 4. Efeitos de diferentes cepas de *S. cerevisiae* vivas na acumulação de lactato *in vitro*, com conteúdo ruminal de 3 vacas canuladas alimentadas com feno e concentrado (50:50). Fonte: Adaptado de CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 2008.

Outro estudo comparando 2 tipos de cepas de LV em vacas secas analisou a emissão de metano, CMS e pH ruminal. A cepa 2, que mais reduziu a taxa de produção de metano por kg de MS ingerida em 1,2 g comparada ao controle e 1,8 g a outra cepa (16,1 g versus 15,7 g versus 17,5 g CH₄/kg MS ingerida) provocou também a redução do pH ruminal. As taxas foram de no mínimo de 5,35 e média de 5,98 para a cepa 2 versus 5,66 e 6,34 pH respectivamente da outra cepa e a quantidade de horas em que o pH continuou abaixo de 5,8 (7,5 versus 3,3 horas). A conclusão obtida pelos autores foi que apesar da redução da emissão de CH₄, houve aumento no risco de acidose pela cepa 2, sendo não recomendada para gado leiteiro (CHUNG et al., 2011).

Com relação à análise dos resultados da digestão de fibras com diferente cepas de LV que foram obtidas *in vitro* e a taxa de degradação da fibra (em mg/h) em líquido ruminal de bovinos alimentados com feno e concentrado (50:50) verifica-se um diferente desempenho entre as cepas. Os resultados obtidos encontram-se resumidos na Figura 5.

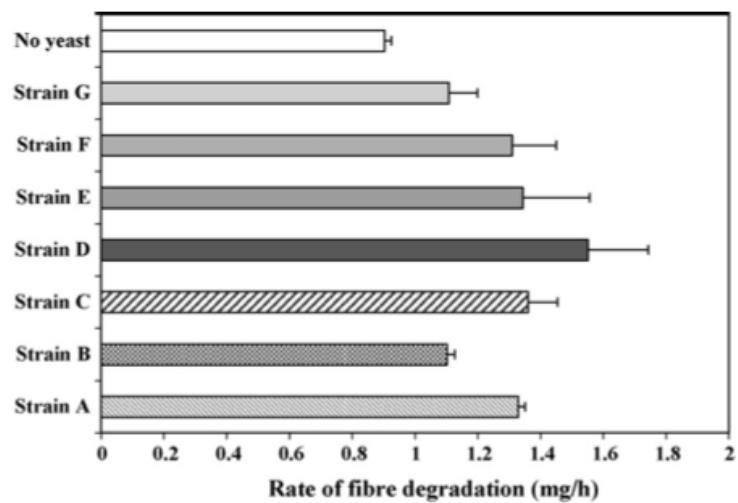


Figura 5. Efeitos de diferentes cepas de LV nas taxas de degradação de fibra (mg/h) *in vitro* com líquido ruminal de bovinos. Adaptado de CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 2008.

Com a análise desses estudos, de acordo com a cepa utilizada, fica evidenciado que a ação das LV no ambiente ruminal são cepa-dependentes. Ou seja, há cepas que melhoram o ambiente ruminal, propiciando melhor resposta ao aditivo fornecido.

3.4 Modo de ação da *S. cerevisiae* no rúmen de vacas leiteiras

Estudos realizados com leveduras *S. cerevisiae* nas últimas décadas tem apresentado efeitos atribuídos a LV, LI e CL como o aumento da digestão de fibras, decorrentes provavelmente do aumento na população de bactérias celulolíticas e ruminal total, culminando em aumento da produção de leite, melhora na resposta imunológica, particularmente em situações de estresse (NRC, 2001; NEWBOLD, 1996; CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 2008; DENEV et al., 2007).

O aumento no número de bactérias viáveis e de bactérias celulolíticas é um efeito notável da *S. cerevisiae* (FERELI et al., 2010; DAWSON et al., 1990; HARRISON et al., 1998). O mecanismo sugerido é pela melhoria do ambiente ruminal e/ou pelo fornecimento de cofatores de crescimento pelas leveduras às bactérias e por manter o ambiente com baixa concentração de O₂ (WALLACE, 1994).

Uma forma de melhora do ambiente ruminal é pela estabilização do pH, propiciada pelo aumento do número de bactérias consumidoras de lactato (BACH et al., 2006; CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 2008). Ou ainda, como sugerido por alguns estudos, por cofatores para crescimento da população bacteriana, como peptídeos que estimulariam o crescimento (DENEV et al., 2007) e/ou o fornecimento de ácidos dicarboxilícios, especialmente o malato, além de vitaminas do complexo B, essenciais para o metabolismo da população ruminal.

Com esse aumento da população ruminal total, há maior produção total e individual de AGCC, diminuindo também a relação acetato:propionato (OEZTUERK et al., 2009; ROBINSON, 2009; CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 2008; NEWBOLD et al., 1996). Além dos AGCC como produtos finais da fermentação, temos também os gases CO_2 , CH_4 e H_2 . Dentre eles, o metano (CH_4) possui grande importância por se tratar de um gás com potencial efeito estufa. Muitas cepas de *S. cerevisiae* já foram catalogadas e vem sendo estudadas para comprovação do efeito de mitigação da produção de CH_4 pelas bactérias metanogênicas.

Para o pleno desenvolvimento da grande maioria da população ruminal, o ambiente precisa ter condições adequadas (pH, temperatura, osmolalidade e potencial redox). A concentração de O_2 se mantém entre 0,25 a 1,0 μM devido à entrada de O_2 originário dos capilares do epitélio ruminal, da água, dos alimentos e da saliva. Estudos com LV sugerem que há o consumo de O_2 pelas leveduras, mas esse consumo seria relativamente pequeno comparado ao consumo dos microorganismos facultativos aeróbios que realizam a metabolização do O_2 (ELLIS et al., 1989).

O uso de *S. cerevisiae* tem ação positiva em períodos de desafio imunológico, como mudança de lotes, desmame, parto, fortalecendo a resposta imunológica e imunomoduladora, ativando as células de defesa (células NK e fagocíticas) (FUKUDA et al., 2009) e também em outros momentos de estresse calórico, ativando os mecanismos de produção de calor, mantendo a produção de leite (BRUNO et al., 2009 (a); SALVATI et al., 2015).

3.4.1 Aumento ou manutenção do pH ruminal

O pH do rúmen mantém-se normalmente constante de 5,5 a 7,0. Porém, variações no pH ocorrem após a refeição de acordo com a natureza do alimento e a frequência de alimentação. Os valores mínimos de pH ocorrem após a refeição, cerca de 2-6 horas após o consumo de alimentos, pela alta produção de AGCC (DEHORITY, 2004).

Bactérias celulolíticas (fermentadoras de carboidratos estruturais) e protozoários desenvolvem-se melhor em pH 6,2 ou um pouco mais alto, sendo que as taxas de digestão de fibra já diminuem com pH abaixo de 6,5 (DEHORITY, 2004). As bactérias amilolíticas (fermentadoras de carboidratos não estruturais) são mais ativas em pH 5,8. Para que o pH mantenha-se constante, os ruminantes utilizam-se da saliva (pH 8,1) como agente tamponante por sua grande quantidade produzida (cerca de 60 a 180l/dia nos bovinos) e por conter bicarbonato, fosfato e potássio (NUSSIO et al., 2011).

O pH ruminal pós-prandial, principalmente com o consumo de carboidratos fermentáveis em dietas com alta quantidade de grãos, comum na pecuária leiteira, declina rapidamente devido à alta produção de AGCC e ácido láctico. O ácido láctico é mais potente em reduzir o pH ruminal do que qualquer outro AGCC, sendo que esses possuem maior pKa (4,8 – 4,9) que o ácido láctico. Essa acumulação mantém o baixo pH, caracterizando um papel importante na acidose ruminal (pH 5,5 – 5,6) pelo ácido láctico e consequentes distúrbios metabólicos envolvidos (NRC, 2001; CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 2008).

Com essa redução de pH ruminal, as bactérias mais adaptadas a esse meio mais ácido, como *Proteobacteria*, *Megasphaera elsdenii*, *Streptococcus bovis*, *Selenomonas ruminantium* e *Prevotella bryantii* aumentam. Ao contrário, a população de *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus* e *flavencis*, *Butyrivibrio fibriosolvens*, importantes fermentadoras de fibras, diminuem (FERNANDO et al., 2010).

A presença de leveduras, vivas ou inativadas no líquido ruminal estimulou o crescimento das bactérias *S. ruminantium* e *M. elsdenii* (NEWBOLD et al., 2015). *M. elsdenii* e *S. ruminantium* são bactérias gram-negativas e anaeróbicas que realizam a fermentação de lactato, contribuindo para estabilização do pH (DEHORITY, 2004).

Em alguns estudos, as CL e as LV não alteraram o pH (DAWSON et al., 1990; ERASMUS et al., 1992; HRISTOV et al., 2010; CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 2008; OPSI et al., 2012), mas mantiveram o pH sem grandes variações constantes (BACH et al., 2007; ALLEN & YING, 2012) como demonstrado na figura 6, tendo efeito similar ao do bicarbonato de sódio (MARDEN et al., 2008).

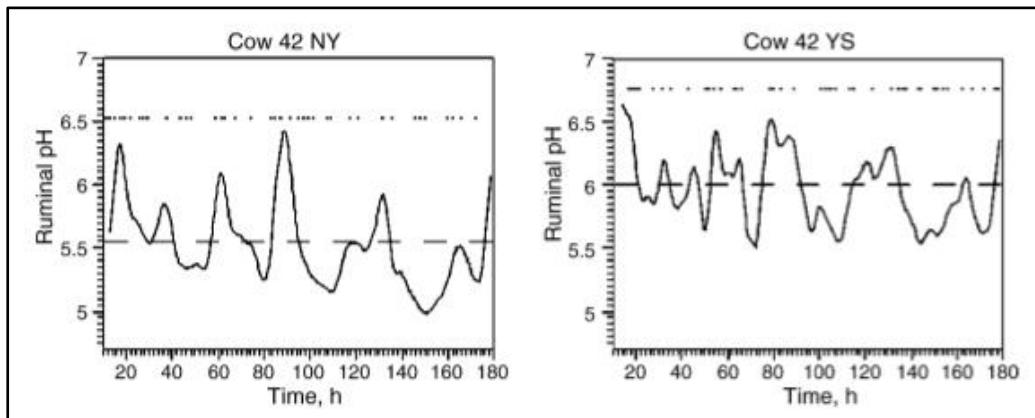


Figura 6. Flutuação individual de pH ruminal durante 8 dias. NY - sem suplementação de LV; YS com suplementação de LV. Os pontos indicam o começo da alimentação. A linha pontilhada indica a média do pH ruminal. Adaptado de BACH et al., 2007.

O uso das formas comerciais de leveduras em alguns dos estudos conseguiu manter o pH ruminal mais estável mesmo após a refeição, reduzindo o risco de acidose em vacas leiteiras. Na comparação entre LV e LI, o efeito de redução do lactato ruminal seria perdido com o uso de leveduras inativadas (CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 2008), porém não confirmado em testes comparativos entre leveduras vivas e cultura de leveduras (LYNCH & MARTIN, 2002).

3.4.2 Alterações na fermentação ruminal

3.4.2.1 Proteólise e concentração ruminal de amônia

A quantidade de nitrogênio amoniacal presente no rúmen é decorrente da degradação de proteínas e da reciclagem de ureia - via saliva ou epitélio ruminal (VAN SOEST, 1994). O excedente de amônia é absorvido pelo epitélio ruminal e levado ao fígado para ser metabolizado a ureia e excretado.

As bactérias fibrolíticas usam a amônia como fonte principal de nitrogênio para síntese de proteínas (DEHORITY, 2004) e com o aumento dessa população, o efeito de redução da concentração de amônia no rúmen é esperado.

O uso de CL em estudo mostrou um decréscimo na concentração de amônia ruminal de $148,5\text{mg L}^{-1}$ para $103,1\text{ mg L}^{-1}$ pós refeição, além de maior produção de AGCC, sugerindo esse efeito de aumento populacional (ENJALBERT et al., 1999). A CL aumentou o fluxo de aminoácidos, principalmente metionina, para o duodeno e a síntese de proteína microbiana (ERASMUS et al., 1992).

Entretanto, em dois estudos *in vivo* com LV, esse efeito não foi demonstrado, mantendo-se inalterados os níveis de amônia ruminal (GUEDES et al., 2008).

Foi demonstrado em trabalho *in vitro* com LV e LV autoclavadas da espécie *S. boulardii*, que não houve diferença significativa na concentração de nitrogênio amoniacal entre ambas, mas com aumento em relação ao controle (OEZTUERK et al., 2005).

Em análise desses estudos, e com o efeito comprovado no aumento populacional dos microorganismos ruminais, observa-se um efeito produzido por ambos os produtos de leveduras (LV e CL).

3.4.2.2 Alteração na proporção de AGCC e a relação acetato:propionato

A concentração relativa de AGCC variam para o acético em 54-74%, propiônico 16-27% e butírico em 6 -15% de acordo com a dieta fornecida (COELHO DA SILVA & LEÃO, 1979).

O acetato é o principal AGCC produzido no rúmen e circulante na corrente sanguínea da vaca leiteira. O acetato é convertido em Acetyl-CoA, utilizado também pelo fígado para a síntese de gordura. O propionato é captado pelo fígado, convertido a Succinil-CoA e depois a Oxaloacetato e, através da gliconeogênese, é convertido em glicose, mantendo os níveis sanguíneos e fornecimento aos tecidos (SANTOS & PEDROSO, 2011).

É sugerido que o uso de leveduras possa alterar o perfil de AGCC produzido no rúmen, aumentando a produção do propionato, reduzindo a relação acetato:propionato, aumentando o potencial glicogênico da dieta (GUEDES et al., 2008). Esse efeito poderia ser atribuído tanto ao aumento da produção de ácido láctico quanto ao seu consumo e/ou o aumento da degradação da fibra, ou ainda pela expressão dos genes integrantes no metabolismo dos AGCC (WEATHERLY, et al, 2015).

Em estudo com LV ocorreu um aumento no acetato, propionato e butirato, comparado à dieta controle, sendo que os picos de produção desses AGCC estavam a cerca de duas horas e quatro horas após a alimentação à base de feno (GUEDES et al., 2008). Mesmo efeito detectado com CL, onde houve o incremento de 20% da concentração total de AGCC após uma hora da refeição, diminuindo também a relação acetato:propionato (ENJALBERT et al., 1999).

Com CL ocorreu um aumento na produção de propionato (29,5 mM para 27,8 mM do controle) com incremento de glicose plasmática de 55,4 mg/100mL para 58,0 mg/100mL (HRISTOV et al., 2010). Esse aumento de glicose plasmática contribui para aumento da lactose no leite e consequente aumento de produção.

Ambos os produtos, LV e LI produziram ou não alterações nos perfis de AGCC das vacas leiteiras, o que supõe diferença entre cepas e/ou diferença entre as dietas fornecidas.

3.4.3 Aumento na produção de leite

Um dos efeitos mais notáveis e constatados em pesquisas com o uso das leveduras é o aumento na produção de leite, encontrado em cerca de 90% dos experimentos realizados tanto com LV como CL (ROBINSON, 2009). Além do aumento na produção de leite, há a tendência em aumento nas percentagens de gordura e lactose.

O aumento da produção de leite se deve, a princípio, nas mudanças do ambiente ruminal, com maior digestibilidade da fibra e matéria orgânica e devido ao aumento do CMS. Porém muitas dessas respostas em ingestão não demonstraram efeito estatístico.

Em uma meta-análise do uso de CL, avaliando um total de 61 trabalhos - entre artigos publicados, resumos e relatórios técnicos - os efeitos obtidos com aumento da produção de leite e seus componentes ficaram muito próximos com outro resultado, também de meta-análise com o uso de LV. Os resultados estão sumarizados na Tabela 5.

Tabela 5. Resultado de meta-análise com uso de CL e LV na produção de leite e seus principais componentes em comparação ao controle.

| Item | Aumento na produção leite (kg/d) | % Gordura | Produção de Gordura (kg/d) | % Proteína | Produção de Proteína (kg/d) |
|-----------------------------------|----------------------------------|-----------|----------------------------|------------|-----------------------------|
| Cultura de Leveduras ¹ | 1,18 | 0,04 | 0,06 | -0,03 | 0,03 |
| Leveduras Vivas ^{2*} | 1,20 | 0,05 | Na | 0,0 | 0,0 |

1 – Adaptado de POPPY et al., 2011.

2 – Adaptado de DESNOYERS et al., 2009.

Na - não analisado.

No comparativo descrito na tabela, não houve pouca diferença entre o aumento da produção de leite relativo ao controle com o uso de CL ou LV. A justificativa para o aumento em produção de leite é embasada na melhora do ambiente ruminal estabilidade de pH, culminando com o aumento da digestão de fibra e aumento na ingestão de matéria seca e o aumento na produção de propionato.

3.4.4 Efeitos no consumo de matéria seca e aumento na digestibilidade

O período compreendido em 3 semanas pré-parto e 3 semanas pós-parto, considerado período de transição, é crucial para a saúde da vaca e do saúde do bezerro e a produção de leite. O controle da condição corporal, uma dieta balanceada, são importantes desafios deste período. Neste fase, o consumo de matéria seca (CMS) é reduzido, por ação física do feto, e, após o parto, pelo aumento de ácidos graxos não esterificados circulantes, entre outros efeitos.

O aumento da digestibilidade da fibra no rúmen (CHAUCHERYAS-DURAND et al., 2008) levaria a um aumento na digestão de matéria orgânica em todo trato digestivo (DESNOYERS et al., 2008).

A provável hipótese para que haja incremento na digestibilidade e aumento de CMS deve ser devido a fatores relacionados ao aumento das bactérias presentes no rúmen, o que melhoraria a digestibilidade.

Em uma meta-análise realizada com CL e outra com LV, nota-se que há uma diferença entre os dois produtos. O aumento de ingestão com LV foi de cerca de 286 g/dia de CMS. Com a CL, ocorreu aumento do consumo durante a fase inicial de lactação – cerca de 620 g/dia (pós-parto) e reduzindo consumo em 780 g/dia na fase final de lactação (POPPY et al., 2012), como indicado na Tabela 6.

Tabela 6. Resultado de meta-análise no CMS e digestibilidade de MS comparando tratamentos de LV e CL com o controle.

| Item | Leveduras Vivas ¹ | Cultura de Leveduras ² |
|-----------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| | Tratamentos | |
| CMS, g/vaca/dia | 286 | 620* |
| Digestibilidade, % MS | 0,8 | 0,8 |

* Aumento de ingestão em vacas com < 70 DL.

1 – Adaptado de DESNOYERS et al., 2009.

2 – Adaptado de POPPY et al., 2012.

A meta-análise realizada por Desnoyers et al.(2009) fez uso de dados com todos os ruminantes que produzem leite - bovinos, bubalinos, caprinos e ovinos, comparativamente com a meta-análise de Poppy et al. (2012) que utilizou como base de dados somente trabalhos com vacas leiteiras, considerando os dias em leite (DEL).

O aumento de CMS na fase imediata do pós-parto é desejável, pois a demanda nutricional é mais alta. Essa menor ingestão e a grande demanda energética por conta da produção de leite, caracteriza um quadro de balanço energético negativo (BEN), que pode levar a distúrbios metabólicos no pós-parto. Já a redução em consumo no fim da lactação representa uma economia e maior eficiência produtiva.

3.4.5 Redução na concentração de O₂ no rúmen

A maioria dos microorganismos ruminai é sensível ao O₂ por não possuírem enzimas capazes de detoxificar formas reativas (peróxidos e superóxidos ânions) do oxigênio em outros compostos, sendo por isso considerados estritamente anaeróbicos (RUSSEL, 2002).

Um grupo de bactérias que se encontra associado à parede ruminal desempenha papel importante na retirada do oxigênio dissolvido, assim como outras espécies presentes na fase líquida, como protozoários ciliados (ELLIS et al., 1989), como demonstrado em Tabela 7.

Tabela 7. Contribuição do consumo ruminal de O₂ pelas bactérias e protozoários no rúmen.

| População Ruminal | Atividade Respiratória ($\mu\text{M O}_2/\text{min/mL}$) | Quantidade de microorganismos presentes no rúmen |
|-------------------|---|---|
| Protozoários | 3,24 | $10^6/\text{mL}$ |
| Bactérias | 3,43 | $10^{10}/\text{mL}$ |

Adaptado de ELLIS et al., 1989; LEAN et al., 2014.

As leveduras que ficam associadas à fração sólida do rúmen podem consumir o O₂ ruminal, estimulando o crescimento das bactérias anaeróbicas (JOUANNY, 1991). Efeito demonstrado *in vitro* analisou os teores de O₂ no fluido ruminal de ovelhas com a adição de algumas cepas de LV. O consumo de O₂ dissolvido aumentou com LV (164 nmol/min/mL com LV x 102 nmol/min/mL). O número de bactérias viáveis no líquido ruminal foi de 4,3 x 10⁸/mL (NEWBOLD et al., 1996).

Com um ajuste de unidades, o valor consumido de O₂ pelas LV é menor se comparado ao encontrado por ELLIS et al. (1989), com os protozoários (164 nmol/min/mL x 3240 nmol/min/mL).

O efeito de consumo de O₂ seria obtido somente por LV. Considerando o aumento da população ruminal e consequente aumento do consumo de O₂, este efeito poderia ser indiretamente provocado pelas leveduras (SANTOS & GRECO, 2012), o que poderia ser obtido por LV ou LI.

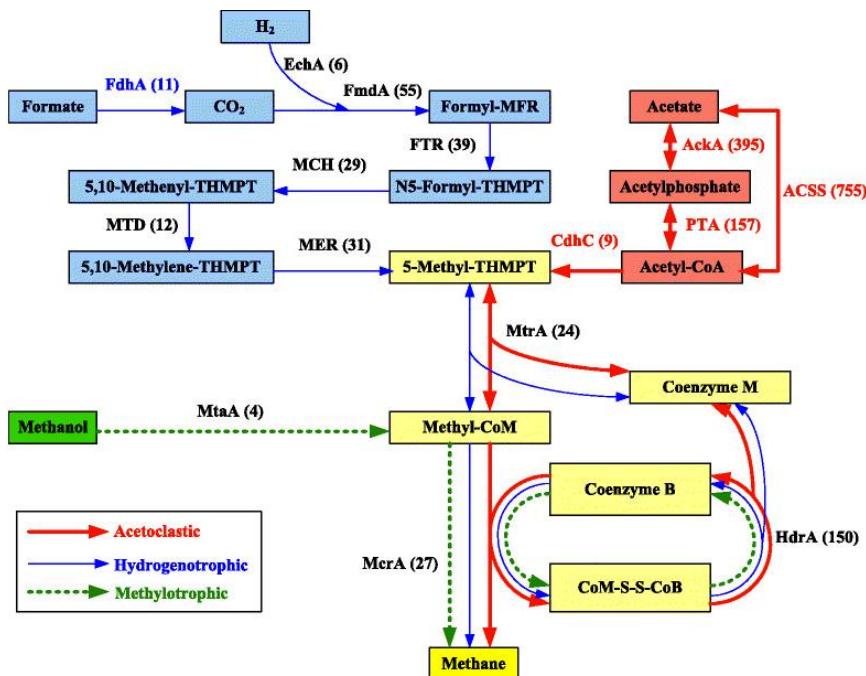
3.4.6 Concentração de CH₄ e produção de gases

Os principais gases resultantes da fermentação ruminal são o dióxido de carbono (CO₂) - 65% da produção total, o metano (CH₄) e em menor quantidade o hidrogênio (H₂).

O CH₄ é produzido pelo grupo das bactérias *Archaea* (metanogênicas) por três vias bioquímicas, utilizando compostos derivados da fermentação bacteriana (RUSSEL, 2002).

Na via mais comum (via hydrogenotrófica), as metanogênicas oxidam o H₂ e utilizam formato, reduzindo-o a CO₂ como acceptor de elétrons, para reduzi-lo a CH₄ (RUSSEL, 2002). A segunda forma (via metilotrófica) é utilizando compostos metílicos, como metanol, para formar o metano. E por fim, utilizando o acetato com a liberação final de metano e CO₂ (via acetoclástica) (ATTWOOD & McSWEENEY, 2008). A via hydrogenotrófica ocorre de acordo com a disponibilidade de H₂ produzida por outras bactérias e pelos protozoários ruminais (SEJRSEN et al.,

2008), o que sugere uma interação entre as metanogênicas e os protozoários. Detalhes das três vias de produção de CH₄ estão contidos na Figura 7.



Outra via de escape de H₂ é a homoacetogênese. Essa via utiliza o H₂ para produção de acetato em detrimento do CH₄ e é produzida pelas bactérias acetogênicas.

As LI são tão eficientes quanto as LV em estimular a via hidrogenotrópica das bactérias acetogênicas e promover o seu crescimento reduzindo a perda de energia pelo CH₄ (CHAUCHEYRAS et al., 1995).

Em outro estudo, medições de produção de metano *in vitro* com líquido ruminal de ovinos comparando LV e LI, com dieta de alta forragem, houve aumento na produção de CH₄ com leveduras, sendo mais significativo com leveduras vivas (OPSI et al., 2012), sugerindo um aumento na produção de acetato e consequente aumento na produção de CH₄.

Em estudo feito com CL em vacas de alta produção, o CH₄ emitido por eructação não teve diferença ao controle, mas o emitido pelo esterco foi reduzido (HRISTOV et al., 2010).

Diante do exposto e da variabilidade dos resultados, essas diferenças podem estar relacionadas com as cepas das LV. Mais estudos na área precisam ser realizados para investigar as possíveis cepas que atuem no grupo de acetogênicas para reduzir a produção de CH₄.

3.4.7 Alterações na população e cofatores de crescimento para os microorganismos ruminais

3.4.7.1 Nucleotídeos

Cerca de 10-25% do total de nitrogênio contabilizado em bactérias ruminais são ácidos nucleicos (DNA e RNA) e desses 70-80% são RNA. A síntese desses ácidos nucleicos pelos microorganismo ruminais é feita com o suplemento de nitrogênio não proteíco (NNP) da dieta, de peptídeos, aminoácidos livres e nucleotídeos (FUJIHARA & SHIM, 2011). As leveduras são utilizadas como fonte de nucleotídeos em produtos comerciais para nutrição animal.

Os nucleotídeos consistem de uma base nitrogenada que pode ser uma purina (adenina e guanina) ou pirimidina (citosina, timina e uridina), ligada a um açúcar pentose (ribose ou desoxirribose) e a um ou mais grupos fosfato, conforme detalhado em Figura 8.

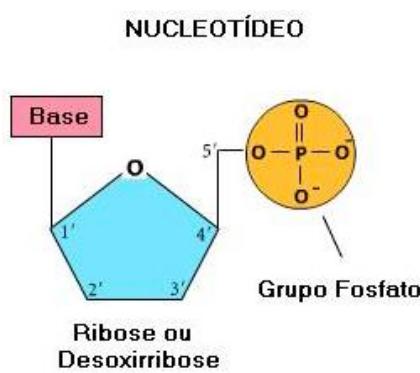


Figura 8. Composição básica de um nucleotídeo.

Os nucleotídeos participam de uma série de processos bioquímicos, sendo essenciais ao metabolismo celular, como os ácidos nucléicos, ativando vias biosintéticas, transportando energia química (ATP), componente co-enzimático (NAD, FAD e Acetyl- CoA) e um regulador biológico (AMP-cíclico). Em diferentes situações, como fases de crescimento, enfermidades, desafios vacinais, injúrias hepáticas e intestinais, entre outros, os nucleotídeos exógenos contribuem para a produção de leucócitos, sugerindo também uma atividade aumentada das células *natural killer* e fagocíticas, produção de interleucina-2, proliferação linfocítica, etc (COSGROVE, 1998).

Nucleotídeos purificados obtidos a partir do EX *S. Cerevisiae* foram testados como aditivo em bezerros leiteiros com melhora da função e na morfologia intestinal (maior altura de vilosidades) com mesmo resultado em leitões recém-desmamados em comparativo com antimicrobiano (KEHOE et al., 2008; ANDRADE et al., 2011).

Em publicação recente, um grupo de pesquisadores avaliou a resposta imunológica e as taxas de reprodução em vacas leiteiras. As taxas de pré-vacinação versus pós-vacinação de Imunoglobulina G (IgG) tenderam a ser maiores quando comparados ao controle. Ocorreu também aumento na Imunoglobulina A (IgA) no muco vaginal comparado ao controle (RODRIGUEZ-PRADO et al., 2015).

Esses estudos sugerem um benefício intestinal, reprodutivo e imunológico. Porém efeitos na nutrição ruminal precisam de melhor investigação de forma a avaliar as LV e LI.

3.4.7.2 Malato e outros ácidos orgânicos

Uma das teorias para aumento das bactérias ruminais providas pelas leveduras seria o fornecimento de cofatores para crescimento como os ácidos orgânicos.

Algumas bactérias estritamente anaeróbicas utilizam uma via reversa do ciclo do ácido cítrico para a produção de succinato e/ou propionato, obtendo energia, conforme demonstrado em Figura 9. Malato e fumarato, 2 ácidos dicarboxílicos, são intermediários chave dessa via (KHAMPA et al., 2009).

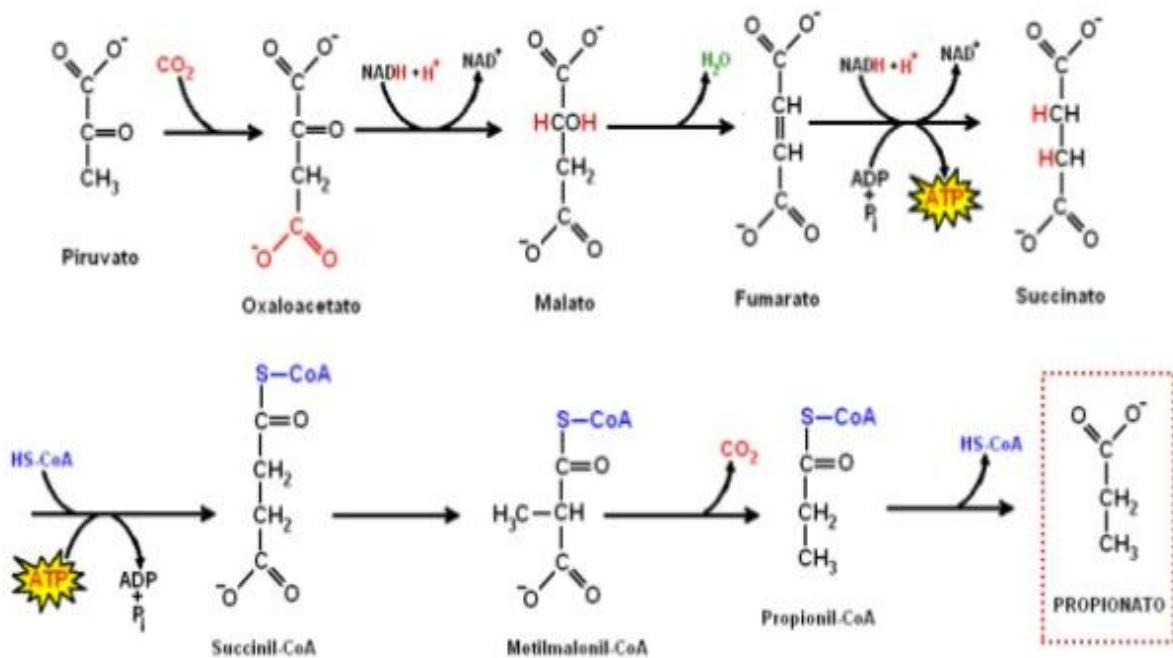


Figura 9. Esquema da produção de propionato por via alternativa. Fonte: <http://slide.share.net>.

A suplementação de malato pela dieta tem mostrado ser eficiente em reter o nitrogênio amoniacal no rúmen, aumentar a digestibilidade da fibra *in vitro* (74,4 controle e 76,6% com 200 mg malato) (KUNG et al., 1982) e aumento da produção de gás total (68,1 controle e 77,8 mmol/dia com malato) (CARRO et al., 2009). Esses efeitos sugerem um aumento na população total de bactérias ou um aumento da sua atividade metabólica e o consumo de lactato (CARRO et al., 1999).

O malato é um ácido orgânico encontrado nas leveduras, sendo que a autólise pode favorecer sua biodisponibilidade para o ambiente ruminal, beneficiando as bactérias utilizadoras de lactato como *S. ruminantium*, mesmo em dietas contendo 70% de carboidrato (NEWBOLD et al., 1996).

Em teste utilizando suplemento de ácido málico e LV, ficou constatado que houve crescimento populacional microbiano com a suplementação de LV e não houve diferença em relação do controle ao ácido málico em ovelhas (NEWBOLD et al., 1996).

Sendo as leveduras fonte de ácido málico, espera-se que o incremento no número de bactérias e um aumento na produção de propionato e consequente aumento da síntese de glicose. Esse aumento dos níveis plasmáticos proporciona aumento a produção de leite. Como esses efeitos foram obtidos concomitantemente por LV e LI (CL) em alguns estudos (HRISTOV et al., 2010; DEHGHAN-BANADAKY et al., 2013; SALVATI et al., 2015), estima-se que ambos possam fornecer ácido málico e/ou fumárico para os microorganismos ruminais.

3.4.7.3 Vitaminas do complexo B

Em se tratando das exigências de vacas leiteiras, a predição de vitaminas do complexo B produzidas pelos microorganismos ruminais é difícil de ser analisada (RAGALLER et al., 2010), porém esta produção foi considerada suficiente para suprir os requerimentos (NRC, 2001), sendo alterada conforme novos estudos foram publicados.

As vitaminas do complexo B são requeridas pela maioria dos microorganismos ruminais para seu desenvolvimento e, em muitos casos, a vitamina atuaria como fator estimulante de crescimento (ZEOULA & GERON, 2011).

As exigências são diferentes entre as espécies, e nem todos os microorganismos sintetizam as vitaminas do complexo B. A seguir, estão listados na Tabela 8 as exigências (não quantificadas) de algumas bactérias ruminais:

Tabela 8. Exigência de vitaminas do complexo B de algumas bactérias ruminais.

| Organismo | Biotina | Á. Fólico | PABA | B ₆ | B ₅ | B ₁ | B ₂ | B ₃ | B ₁₂ |
|----------------------------|---------|--------------|------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|
| <i>F. succinogenes</i> | + | - | + | - | - | - | - | - | - |
| <i>Rb. Amylophilus</i> | + | - | - | - | - | - | - | - | - |
| <i>R. flavefaciens</i> | + | + | + | + | - | + | + | - | + |
| <i>R. albus</i> | + | - | + | + | - | - | - | - | - |
| <i>Bu. Fibrisolvens</i> | + | + | - | + | - | - | - | - | - |
| <i>S. bovis</i> | + | - | + | - | + | + | - | + | - |
| <i>Sel. ruminantium</i> | + | - | + | - | - | - | - | - | - |
| <i>Su. dextrinosolvens</i> | - | - | + | - | - | - | - | - | - |
| <i>M. elsendii</i> | + | - | - | + | + | - | - | - | - |
| <i>P. ruminicola</i> | + | - | + | - | - | - | - | - | - |

PABA: ácido paraminobenzóico; B₆: Piridoxina ; B₅: Ácido Pantotênico; B₁: Tiamina; B₂: Riboflavina; B₃: Niacina; B₁₂: Cobalamina.

Adaptado de HUNGATE, 1966; DEHORITY, 2004.

A principal vitamina do complexo B em exigências das bactérias que degradam fibras – *F. succinogenes*, *R. flavefaciens* e *R. albus* - seria a biotina (ZEOULA & GERON, 2011), como demonstrado na Tabela 9. A biotina atua como cofator enzimático e está envolvida na gluconeogênese, no metabolismo do propionato, na síntese de ácidos graxos e na deaminação de aminoácidos. Outras vitaminas do complexo B essenciais ou estimulatórias para o crescimento das bactérias ruminais são ácido paraminobenzóico (PABA), piridoxina, ácido fólico, riboflavina e tiamina (DEHORITY, 2004).

Comparando as necessidades dos microorganismos com análise laboratorial de LI oriunda da indústria de cervejaria (Tabela 9), a composição de vitaminas do complexo B das leveduras atenderia de forma qualitativa quase todas as exigências citadas na Tabela 8. Apesar do estudo não trazer quantificado outras vitaminas do complexo B fora o indicado, a análise de vitaminas nas leveduras é escasso na literatura científica (PINTO et al., 2011).

Tabela 9. Perfil vitamínico de levedura oriunda de cervejaria.

| Vitaminas | Quantidade (mg/100g) |
|--|----------------------|
| Vitamina B ₁ (Tiamina) | 0,47 |
| Vitamina B ₂ (Riboflavina) | 1,38 |
| Vitamina B ₃ (Niacina) | 26,54 |
| Vitamina B ₆ (Piridoxina) | 13,60 |
| Vitamina B ₉ (Ácido Fólico) | 3,74 |
| Vitamina B ₁₂ (Cobalamina) | 75,8 |

Adaptado de Pinto et al., 2013.

Um recente estudo realizado com suplementação de LV analisou a concentração plasmática de niacina, que aumentou 0,09 µg/mL em relação ao controle (SALVATI et al., 2015). A niacina participa como coenzima do NAD (H) e NADP (H), carreadores de elétrons, sendo essenciais na respiração mitocondrial e no metabolismo de carboidratos, lipídeos e ácidos graxos (NRC, 2001). Com base nesse estudo preliminar, pode-se concluir que as LV estimularam a síntese de niacina no rúmen (SALVATI et al., 2015).

Poucos estudos foram realizados com relação à suplementação de leveduras e o aporte de vitaminas do complexo B fornecidas aos animais. Mas, considerando o aumento da população ruminal e a necessidade das vitaminas do complexo B no metabolismo dos microorganismos, supõe-se que as LV e LI sejam fornecedoras desses cofatores, servindo como estímulo e/ou limite de crescimento microbiano ruminal.

3.4.8 Redução do estresse calórico

As perdas estimadas pela indústria pecuária leiteira nos EUA por estresse calórico chegam a US\$ 900 milhões anuais (St-PIERRE, et al., 2003). O estresse calórico afeta negativamente as vacas leiteiras por estarem acima da zona de

conforto (termoneutra), que para vacas leiteiras da raça Holandesa, ficam em torno de 10 - 18°C. Um indicativo utilizado para medição de conforto térmico em vacas leiteiras são os índices de temperatura e umidade (ITU) como indicados em Tabela 10.

Tabela 10. Índices de Temperatura e Umidade e efeitos de estresse térmico.

| ITU = 0,8 Ta + UR (Ta – 14,3)* + 43,6 | Efeito no animal |
|---------------------------------------|-------------------|
| < 70 | Pouco desconforto |
| 71 – 73 | Desconforto |
| 74 – 78 | Alerta |
| 79 – 83 | Perigo |
| < 83 | Estresse severo |

*Ta: Temperatura do bulbo seco (°C); UR: Umidade relativa do ar (%)

Fonte: FERREIRA et al., 2006.

As condições de estresse calórico, com ITU acima de 68 pontos atualmente, podem influenciar negativamente a produção de leite, o crescimento e a reprodução e aumentando o risco de laminita e consequente abate dos animais leiteiros (De VRIES, 2014).

O estresse calórico provoca queda no tempo de ruminação e redução da motilidade reticular, reduzindo também a taxa de passagem (SILANIKOVE, 1992) e maior frequência respiratória para redução do calor. Com essa hiperventilação, pode ocorrer alcalose respiratória por menor pressão de CO₂ interna, aumentando o consumo de bicarbonato pelos rins, afetando a produção de saliva. A redução na produção de saliva, juntamente com o maior fluxo sanguíneo periférico, contribuem para menor absorção de nutrientes e acúmulo de AGCC ruminal, causando redução

no pH, provocando também carência de algumas vitaminas. Em vacas com estresse calórico, o nível de niacina plasmática é reduzido, sugerindo a suplementação (SALVATI et al., 2015).

O mecanismo biológico envolvido na resposta ao estresse térmico não é explicado somente pela redução de consumo, mas também pela alteração endócrina - maior resistência a insulina, redução da ruminação e absorção de nutrientes e aumento da energia de manutenção. (NRC, 2001; BAUMGARD et al., 2009). O aumento da energia de manutenção se dá pelo mecanismo de regulação térmica corporal. Mais glicose está circulante pela resistência à insulina, induzindo seu gasto pelos tecidos periféricos (WHEELOCK et al., 2010), reduzindo a lipólise. Dessa forma, ocorre uma diminuição do aporte de glicose para a síntese de lactose da glândula mamária, diminuindo a produção de leite (SALVATI et al., 2015).

Um efeito positivo foi verificado em vacas em lactação durante os meses de verão (estresse calórico) com suplemento de CL em ITU médio de 72. Houve um aumento de 1,2 kg leite/dia, 0,03 kg/dia de proteína e 0,05 kg/dia de lactose do que as vacas no controle (BRUNO et al. (a), 2009), como demonstrado no gráfico da Figura 10. Efeito também registrado com uso de LV, com aumento de 1,3 kg leite/dia, e 0,14 kg/dia nos sólidos totais, especialmente lactose (SALVATI et al., 2015).

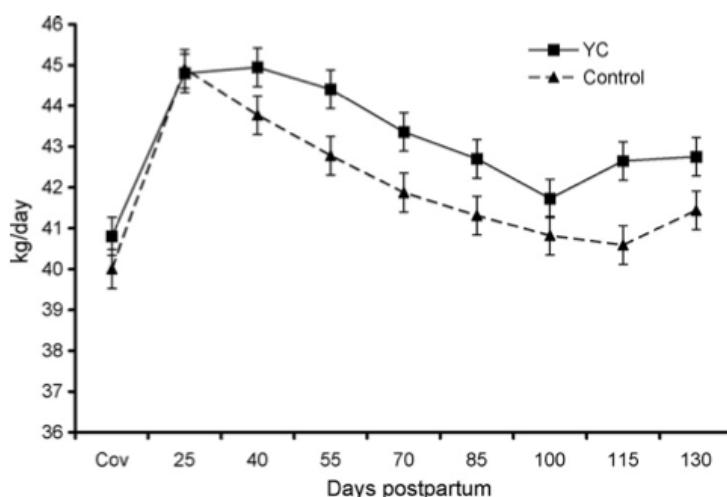


Figura 10. Efeitos do fornecimento de YC (Cultura de levedura) na produção de leite em dias pós-parto durante o estresse calórico. Médias: Controle = 42,2 kg/dia; CL = 43,4 kg/dia, medidos durante 120 dias pós-parto. Adaptado de Bruno, et al. (a), 2009.

O efeito de aumento da glicose foi observado com ambos os produtos: CL, com aumento de 2,6 mg/dL ($P=0,14$) por Hristov et al. (2010) e com LV 10,1 mg/dL ($P<0,05$) Dehghan-Banadaky et al. (2013) e 5,6 mg/dL ($P<0,09$) por Salvati et al., 2015 para vacas em estresse calórico.

Analizando os dados obtidos em estresse calórico, os efeitos são positivos para manter e/ou aumentar a produção de leite com CL e LV, auxiliando no conforto térmico do animal e no funcionamento ruminal.

3.4.9 Aporeto ao Sistema Imunológico

Em humanos, os efeitos das leveduras já são bem conhecidos, em especial os das glucanas e dos mananoligossacarídeos, encontrados na PC. Esses carboidratos geram resposta do sistema imunológico inato e corroboram para a secreção de citocinas, sendo este efeito comprovado também em estudos com ruminantes jovens (NOCEK et al., 2011).

O sistema imunológico possui duas respostas distintas: a do sistema inato (não específica) e a do sistema adaptativo. O sistema inato é composto pelos macrófagos, neutrófilos, células NK (*natural killers*) e pelas citocinas, glicocorticoides, interferons, interleucinas, fatores necrosantes tumorais que são sinalizadores bioquímicos da resposta inflamatória. As citocinas atuam como sinais químicos nos processos de diferenciação, proliferação e apoptose celulares, contribuindo para a manutenção da homeostase no organismo (FUKUDA et al., 2009). O sistema adaptativo (específico) conta com os linfócitos B e T, com os linfócitos B produzindo os anticorpos, que incluem cinco classes: IgG, IgA, IgM, IgD e IgE.

Um bom exemplo de comprometimento do sistema imunológico de vacas leiteiras ocorre no chamado período de transição. Nesse período a concentração de linfócitos e neutrófilos no plasma diminui, assim como outros componentes do sistema imunológico, devido à ação de estrogênio e de glicocorticoides que estão aumentados próximo à data do parto (GOFF, 2006).

Em trabalho realizado analisando dose-resposta de CL (0 g, 56 g e 112 g) comprovou que a dosagem maior não diferiu da menor (56 g) e não provocou alterações na dosagem sérica de IgG, IgM e IgA, (ZAWORSKI et al., 2014) como obtido em humanos com CL *in vitro* por Jensen et al. (2007). Os gráficos com os dados das imunoglobulinas estão contidos na Figura 11.

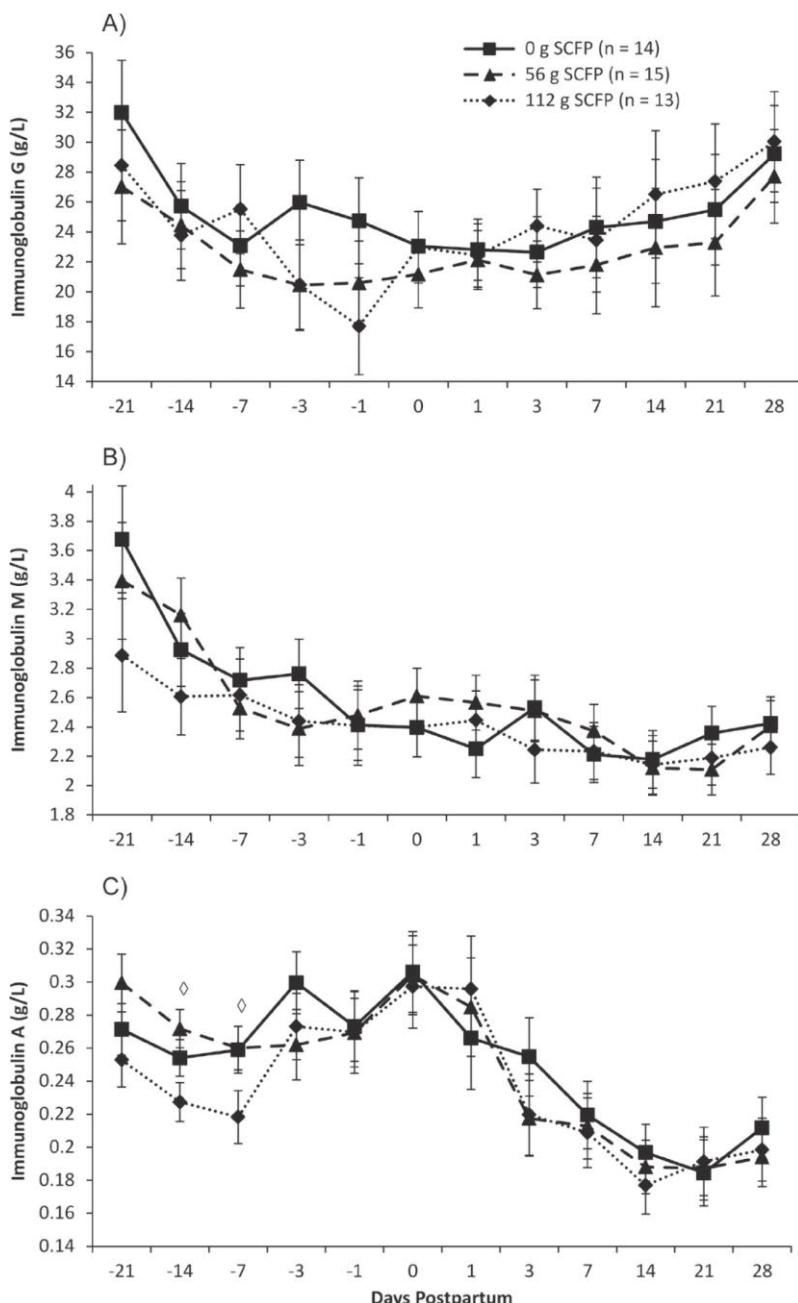


Figura 11. Efeitos de várias dosagens de produtos da fermentação de *Saccharomyces cerevisiae* (SCFP): 0 G (controle), 56g e 112g de SCFP/dia em vacas em transição (n= número de animais) e a concentração de (A) IgG, (B), IgM e (C) IgA. Adaptado de ZAWORSKI et al., 2014.

O uso de CL ou CL + CL hidrolisada enzimaticamente em vacas secas produziu efeitos imunoestimulantes, onde ocorreu um decréscimo na contagem de células somáticas, principalmente nas semanas 8 a 14 pós-parto, de 303.000 cel/mL para 17.700 cel/mL do controle para o grupo com CL + CL hidrolisada enzimaticamente, como indicado em gráfico na Figura 11 (NOCEK et al. 2011).

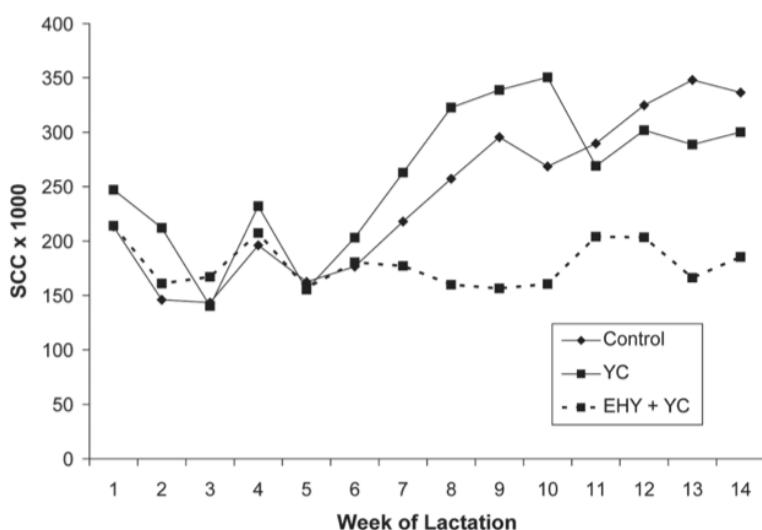


Figura 12. Gráfico com resultado de contagem de células somáticas por semana. (Control) = Dieta base controle, (YC) Dieta base com CL; (EHY+YC) Dieta base com CL + CL enzimaticamente hidrolisada). Adaptado de NOCEK et al., 2011.

Nos efeitos obtidos com a suplementação diária LV ou LI para vacas em período de transição ocorreu um suporte para a adaptação fisiológica pós-parto, com o aumento de produção de leite e menor contagem de células somáticas (OLIVEIRA, 2010; ZAWORSKI, 2014).

Outra situação bem complexa ocorre nas primeiras semanas de vida das bezerras. Ambiente contaminado, infecções com parasitos intestinais, intoxicação por coliformes provocam diarréias e podem causar a morte.

A quitosana, também presente na PC, foi testada em jovens cabritos como prevenção a diarreia, conseguindo reduzir a mortalidade em 36% (ADJOU et al., 2015).

Houve melhoria da função dos neutrófilos com o suplemento de CL em bezerros quando inoculadas com *Escherichia coli*; promoveu a saúde com a redução das diarréias e da mortalidade (MAGALHÃES et al., 2008; JENSEN et al., 2008).

O uso de LV pode trazer benefícios ao intestino pois 17 a 34% das células de leveduras permanecem vivas em todo trato digestivo, e seu efeito poderia ser estendido no pós-rúmen (DURAND-CHAUCHEYRAS et al., 1998).

Diante do exposto, pode-se verificar benefícios tanto com CL ou LV, pois parte da literatura constatou os efeitos benéficos na PC, item presente em LV e CL, exceto no EX, não analisado quanto ao seu efeito imunoestimulante.

3.4.10 Uso de *S. cerevisiae* em rações peletizadas

Em dietas peletizadas a viabilidade das LV pode ser comprometida sem a garantia de células vivas após o processo de peletização. O vapor, à temperatura de 80 - 82°C é utilizado para eliminação de possíveis microorganismos patogênicos presentes e pode danificar o metabolismo da LV.

Como exemplo da ação da temperatura no metabolismo de leveduras, um estudo com LI oriunda de cervejaria analisou o efeito de várias temperaturas a 45, 50, 55 e 60°C durante o processo de autólise e o rendimento proteico após esse processo. Em temperatura acima de 55 - 60°C a proteína contida na levedura foi reduzida em torno de 26 - 30% (TANGULER & ERTEN, 2008), como mostrado em gráfico na Figura 13.

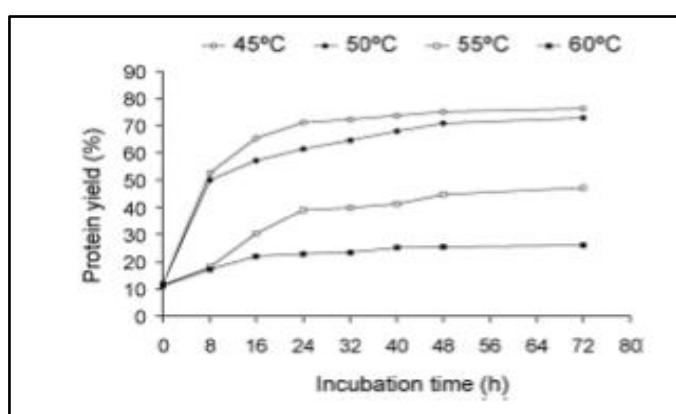


Figura 13. A influência da temperatura no rendimento proteico durante a autólise de levedura de cervejaria. Adaptado de TANGULER & ERTEN, 2008.

Esse resultado sugere que em temperaturas mais altas, ocorreria a inviabilidade do conteúdo proteico das LI e maior perda.

Para o processamento de rações, como peletização, não há a garantia de um mínimo viável de células vivas e com as LI também poderá ocorrer a desnaturação proteica.

Em vias de resolver esse impasse, empresas fabricantes de LV desenvolveram versões protegidas (LV microencapsuladas) que garantiam um mínimo de LV após ação do calor, em temperaturas de até 85°C.

3.4.11 Análise de custo-benefício das LV e LI

Considerando o custo-benefício das LV e LI, os produtos disponíveis no mercado variam o custo entre R\$ 4,50 a R\$ 16,50 (cotados em junho de 2015). O que diferencia é a quantidade indicativa de uso. Calculando as doses diárias recomendadas e o custo de cada produto, temos para as LV – 10 g/dia R\$ 0,082; para CL – 14 g/dia a R\$ 0,063 e para LV protegida – 5 g/dia R\$ 0,083.

Os produtos geram respostas muito parecidas, como o retorno na produção de leite, diferindo, segundo os estudos, no CMS.

Tabela 11. Resumo dos custos de alguns produtos comerciais de leveduras.

| Produto Comercial | Dosagem (g/dia/animal) | Custo (R\$/kg produto) | Custo final (R\$/animal/dia) |
|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------------|
| Levedura Viva | 10 | 8,20 | 0,082 |
| Cultura de Leveduras | 14 | 4,50 | 0,063 |
| Levedura Viva Protegida | 5 | 16,50 | 0,085 |

4. CONCLUSÃO

As leveduras sendo utilizadas tanto como prebióticos ou probióticos possuem efeitos muito semelhantes quanto ao incremento da população ruminal e a resposta quanto ao aumento da produção de leite. As diferenças encontradas nas respostas devem ser relacionadas com o tipo de cepa utilizada, no caso das LV e/ou o meio de cultura em que foram desenvolvidas.

As leveduras poderiam atuar de forma positiva em período de estresse imunológico e ambiental, contribuindo para o melhor ambiente ruminal e tolerância do animal frente a desafios imunológicos nos diferentes estágios fisiológicos.

Outro item que pode ter grande influência na resposta é com relação à dieta. Em dietas com maior proporção de fibras, o uso de leveduras tendeu a aumentar a digestibilidade da fibra, porém, em dietas com maior inclusão de concentrado, o pH manteve-se mais estável.

Tendo em vista o estudo realizado, pode-se concluir que os aditivos apresentados, possuindo custos relativamente próximos, devem ser adotados como medida de manejo seguindo as orientações de técnico da área de nutrição, onde deverá ser avaliada a real necessidade do rebanho de acordo com as condições de manejos adotadas na propriedade leiteira.

5. RELATÓRIO DE ESTÁGIO

5.1 Plano de Estágio

O estágio curricular foi realizado no período de 23/02/2015 a 12/06/2015 na empresa GRASP Indústria e Comércio Ltda, no Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento (P&D), subdivisão de Ruminantes, com o objetivo principal de participar da rotina de profissionais da área de Nutrição Animal.

As atividades realizadas no decorrer do período foram:

- Revisão bibliográfica relacionada com cofatores nutricionais que limitam a síntese de proteína microbiana no rúmen de vacas leiteiras de alta produção (minerais, vitaminas, ácidos graxos de cadeia ramificada, peptídeos, etc.);
- Revisão bibliográfica sobre substâncias aromatizantes e palatabilizantes que estabilizem ou aumentem o consumo de vacas leiteiras;
- Revisão bibliográfica relacionada a aditivos que possam promover melhor resposta do sistema imune humoral;
- Visitas técnicas em propriedades leiteiras;
- Acompanhamento do processo fabril na produção de aditivos da empresa.

Além destas já citadas, foram realizadas outras atividades inerentes ao departamento de P&D, como: avaliações laboratoriais, desenvolvimento de novas formulações, análise de propostas de projetos de pesquisa internacionais, discussão com pesquisadores dos EUA, apresentações de projetos de pesquisa e participações em feiras e eventos.

5.2 Empresa do Estágio

5.2.1 Histórico

A empresa iniciou suas atividades em 2001, na cidade de Curitiba, e com foco em pesquisa e desenvolvimento hoje possui uma ampla linha de soluções para os atuais desafios da produção animal.

A GRASP é uma empresa em constante evolução, que domina e controla seus processos fabris, desde a obtenção das matérias-primas até a qualidade do produto acabado.

Com o objetivo de unir experiências e expandir seus negócios, em 2011 a GRASP formou uma parceria estratégica com a EW|Nutrition, empresa filiada à EW Group, *holding* alemã atuante no setor de agronegócios.



Figura 14. Fachada do escritório – setor administrativo da GRASP – Mossunguê – Curitiba/PR.



Figura 15. Fachada do parque fabril da GRASP – Campo do Santana – Curitiba/PR

Fonte: Imagens gentilmente cedidas pela GRASP.

5.2.2 Missão

Promover saúde, bem-estar, produtividade, segurança e sustentabilidade na produção de insumos para nutrição animal.

5.2.3 Visão

- Economia de insumos para uma produção mais sustentável;
- Aumento de rentabilidade ao cliente;
- Redução do uso de antibióticos promotores de crescimento;
- Menor utilização de substâncias perigosas (formaldeído, compostos clorados, etc);
- Redução da emissão de CO₂ da cadeia alimentar;
- Assegurar a saúde e o bem-estar animal.

5.2.4 Produtos

Os produtos GRASP são desenvolvidos com foco em biotecnologia e tecnologias limpas, através de matérias-primas de fontes naturais, com propriedades curativas e preventivas, para serem utilizados via ração, água de bebida ou prontos para uso. As linhas de pesquisa de produtos da GRASP são desenvolvidas para todas as espécies animais: aves, suínos, bovinos de corte, bovinos leiteiros, animais de companhia, equinos e peixes.

- **Linha Activo:** Composta por óleos essenciais microencapsulados e líquidos; (Activo, Activo Select, Activo Calf, Activo Premium, Activo Mix, Activo Liquid, Saluto e Vitale)

Linha Mastersorb: *Blends* para neutralização de toxinas;
(Mastersorb, Mastersorb FM, Mastersorb Gold e Mastersorb Premium)

- **Prote-N:** Ureia protegida de liberação controlada;
- **Bgmox, Levulys 40 e Levuleg 80:** Leveduras e seus derivados;
- **Linha Globigen:** Ovos ricos em imunoglobulinas IgY;
(Globigen Pig Doser, Globigen Jump Start, Globigen IC e Globigen PG)
- **Calz-o-Phos e LaktaStart:** Repositores vitamínico-minerais de uso oral.

5.2.5 Organograma

A empresa possui um centro de competências formado por especialistas, mestres e doutores que atuam interagindo na construção de conhecimento e novas soluções requeridas pelo mercado. Com isso, viabiliza conhecimento científico em forma de produtos.

5.2.6 Mercado de atuação



Figura 16. Mapa de atuação da GRASP no Brasil e alguns países da América Latina

Figura 17. Mapa de atuação da GRASP no Mercado Internacional

Fonte: Figuras gentilmente cedidas pela GRASP.

A GRASP realiza distribuição, representação e venda direta nos grandes grupos nacionais como também no Bolívia, Paraguai e Uruguai. São onze pessoas atuando diretamente na equipe comercial e mais de 60, indiretamente. A GRASP iniciou as exportações em 2008, e a prospecção deste mercado internacional é conduzida pela EW Nutrition.

5.2.7 Controle de Qualidade e Certificações

A GRASP tem como base os princípios das Boas Práticas de Fabricação (BPF) e da Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), ferramentas que são fundamentais para consolidar seu Sistema de Gestão da Qualidade.

A importante certificação europeia GMP+, na categoria B1, comprova que as matérias-primas e, consequentemente, os produtos são monitorados para a presença de metais pesados, dioxinas, furanos, entre outros contaminantes.

Na última auditoria realizada pelo MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – a GRASP recebeu pontuação de 98,9%, o que os habilita a atuar como empresa exportadora com livre comércio na União Europeia.

Para fomentar a parceria público-privada e a fim de viabilizar avaliações específicas para seus produtos, a empresa construiu, em parceria, um laboratório na Universidade Federal do Paraná (UFPR-LABMOR), com o intuito de desenvolver pesquisas para desenvolvimento da avicultura.



Figura 18. Centro de Estudos da Resposta Imunológica em Aves / LABMOR – UFPR.



Figura 19. Logotipo da certificação de qualidade internacional GMP+.

Fonte: Figuras gentilmente cedidas pela GRASP.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante o período passado na universidade, pouca prática é realizada e somos testados somente em relação ao conteúdo e não com a vivência do campo, da indústria e dos centros de pesquisa.

O estágio curricular obrigatório proporciona essa experiência prática, através do contato com profissionais atuantes na área, com produtores, possibilitando que coloquemos em prática o que nos foi apresentado durante o curso, sendo essencial para o desenvolvimento profissional do aluno de graduação e sua evolução como futuro zootecnista.

O estágio obrigatório realizado na empresa GRASP estimulou a busca mais profunda do conhecimento científico e o desejo de seguir na linha de pesquisa e desenvolvimento de produtos e inovações para a fascinante área de nutrição de ruminantes.

REFERÊNCIAS

- AA, E.; TOWNSEND, J. P.; ADAMS, R. I.; NIELSEN, K. M. **Population structure and gene evolution in *Saccharomyces cerevisiae*.** Federation of European Microbiological Societies Yeast Research, Amsterdam, v. 6, n. 5, p. 702-715, Ago. 2006.
- ADJOU, K.; MARDEN, P.; AUCLAIR, E.; MAGE, C.; VALLÉE. **In vitro efficacy of chitosan against *Cryptosporidium parvum* and validation on infected goat kids.** J. Animal Sci. v.93, suppl. S3, 2015.
- ALLEN, M. S., YING, Y. **Effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on ruminal starch digestion are dependent upon dry matter intake for lactating cows.** J. Dairy Sci, v. 95, n. 11, p. 6591-6605, 2012.
- ANDRADE, C.; ALMEIDA, V. V.; COSTA, L. B., BERENCHTEIN, B., MOURÃO, G. B., MIYADA, V. S. **Levedura hidrolizada como fonte de nucleotídeos para leitões recém-desmamados.** R. Bras. Zootec., v. 40, n.4 p. 788-796. 2011.
- ATTWOOD G.; McSWEENEY, C. **Methanogen genomics to discover targets for methane mitigation technologies and options for alternative H₂ utilization in the rumen.** Australian Journal of Experimental Agriculture, v. 48, p. 28-37, 2008.
- BACH, A.; IGLESIAS, C.; DEVANT, R. **Daily rumen pH pattern of loose-housed dairy cattle as affected by feeding pattern and live yeast supplementation.** Animal Feed Science and Technology, v. 136, p. 146-153, 2007
- BAUMGARD, L. H.; SKRZYPEK, M. V.; COLLIER, R. J.; RHOADS, R. P. **New concepts on heat stress.** Four-State Dairy Nutrition and Management Conference. Dubuque, Iowa, Jun 2009.
- BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes.** 2. ed. Jaboticabal, : Funep, 2011.
- BITENCOURT, L. L. et al. **Diet digestibility and performance of dairy cows supplemented with live yeast.** Scientia Agricola, Piracicaba, v. 68, n.3, p. 301- 307. Mai/Jun 2011.
- BRUNO, R. G. S., RUTGLIANO, H. M., CERRI, R. L. ROBINSON, P. H., SANTOS J. E. P. **Effect of feeding *Saccharomyces Cerevisiae* on performance of dairy cows during summer heat stress.** Animal Feed Science and Technology v. 150, ed.3-4, p. 175-186, 2009. (a)

BRUNO, R. G. S., RUTGLIANO, H. M., CERRI, R. L. ROBINSON, P. H., SANTOS J. E. P. **Effect of feeding yeast culture on reproduction and lameness in dairy cows under heat stress.** Animal Reproduction Science v. 113, p. 11-21. 2009. (b)

CARRO, M. D.; LÓPEZ, S.; VALDÉS, C.; OVEJERO, F. J. **Effect of DL-malate on mixed ruminal microorganism fermentation using the rumen simulation technique (RUSITEC).** Animal Feed Science and Technology, v. 79, n. 4, p. 279-288. 1999.

CHAUCHEYRAS, F.; FONTY, G.; BERTIN, G.; GOUET, P. **In vitro H₂ utilization by a ruminal acetogenic bacterium cultivated alone or in association with an Archaea methanogen is stimulated by a probiotic strain of *Saccharomyces cerevisiae*.** Appl. Environ. Microbiol. v.61, n. 9, p. 3466-3467, 1995.

CHAUD, S. G.; SGARBIERI, V. C. **Propriedades funcionais (tecnológicas) da parede celular de leveduras da fermentação alcoólica e das frações glicana, manana e glicoproteína.** Ciênc. Tecnol. Aliment. v.26, n.2, Campinas - SP. Abr/Jun 2006

CHAUD, S. G., SGARBIERI, V. C., VICENTE, E. **Influência de frações da parede celular de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre alguns parâmetros nutricionais de ratos em crescimento.** Rev. Nutr. v. 21, n. 2, Campinas - SP Mar./Abr. 2008.

CHAUCHEYRAS-DURAND, F., WALKER, N. D., BACH, A. **Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: Past, present and future.** Animal Feed Science and Technology n.145, p 5-28. 2008.

CHUNG, Y.H .; WALKER, N. D.; MCGINN, S. M.; BEAUCHEMIN; K. A. **Differing effects of 2 active dried yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) strains on ruminal acidosis and methane production in nonlactating dairy cows.** J. Dairy Sci., v. 94, n.5, p. 2431-2439. 2011.

COELHO DA SILVA, J. F.; LEÃO, M. I. **Fundamentos da Nutrição de Ruminantes.** Piracicaba, Ed. Livroceres, 1979.

COSGROVE, M. **Nucleotides.** Nutrition, v.12 n.10. 1998.

DAWSON, K. A.; NEWMAN, K. E.; BOLING, J. A. **Effects of microbial supplements containing yeast and lactobacilli on roughage-fed ruminal microbial activities.** J. Anim. Sci. n. 68, p. 3392-3398.1990.

De VRIES, A. **Economics of heat stress: implications for management.** Disponível em: www.extension.org/pages/63287/economics-of-heat-stress:-implications-for-management#.VY2IXeu6n-Y. Acesso em: 26/06/2015.

DESNOYERS, M.; GIGER-REVERDIN, S.; BERTIN, G. DEVAUX-PONTER, C; SAUVANT, D. **Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants.** J. Dairy Sci. v. 92, n. 4, p 1620-1632, 2009.

DEHGHAN-BANADAKY, M.; EBRAHIMI, M.; MOTAMENY, R.; HEIDARI, S. R. **Effects os live yeast supplementation on mid-lactating dairy cows performances, milk composition, rumen digestion and plasma metabolities during hot season.** Journal of Applied Animal Research. v.41, n. 2, p.137-142, 2013.

DEHORITY, B. A. **Rumen Microbiology.** Nottingham,UK: Nottingham University Press, 2004.

DENEV, S. A.; PEEVA, TZ.; RADULOVA, P.; STANCHEVA, N.; SATYKOVA, G.; BEEV, G.; TODOROVA, P.; TCHOBANOVA, S. **Yeast cultures in ruminant nutrition.** Bulgarian J. of Agri. Sci. v.13, p. 357-374. 2007.

DRACKLEY, J. K.; DONKIN, S. S.; REYNOLDS, C. K. **Major advances in fundamental dairy cattle nutrition.** J. Dairy Sci, v. 89. p. 1324-1336. 2006

DURAND-CHAUCHEYRAS, F.; FONTY, G.; BERTIN, G.; THEVENIOT M.; GOUET, P. **Fate of Levucell SC I-1077 yeast additive during digestive transite in lambs.** Reprod. Nutr. Dev., v.38, p. 275-280. 1998.

ELLIS, J. E.; WILLIAMS, A. G.; LLOYD, D. **Oxygen Consumption by ruminal microorganisms: protozoal and bacterial contributions.** Appl. Environ. Microbiol. v. 55, n.10, p. 2583-2587. 1989.

ERASMUS, L. J.; BOTHA, P. M.; KISTNER, A. **Effect of yeast culture supplement on production, rumen fermentation and duodenal nitrogen flow in dairy cows.** J. Dairy Sci. v. 75, n. 11, p. 3056-3065, 1992.

FERELI, F.; BRANCO, A. F.; JOBIM, C. C.; CONEGLIAN, S. M.; GRANZOTTO, F.; BARRETO, J. C. **Monensina sódica e *Saccharomyces cerevisiae* em dietas para bovinos: fermentação ruminal, digestibilidade dos nutrientes e eficiência de síntese microbiana.** R. Bras. Zootecnia, v. 39, n. 1, p. 183-190, 2010.

FERREIRA, I. M. P. L. V. O., PINHO O., VIEIRA E., TAVARELA J. G. **Brewer's *Saccharomyces* yeast biomass: characteristics and potential applications.** Trends in Food Science & Technology, v. 21 p. 77-84. Fev 2010.

FERNANDO, S. C.; PURVIS II, H. T.; NAJAR, F. Z.; SUKHARNIKOV, L. O.; KREHBIEL, C. R.; NAGARAJA, T. G.; ROE, B. A.; DeSILVA, U. **Rumen microbial population dynamics during adaptation to a high-grain diet.** App. Environ. Microb. v.76, n. 22, p. 7482-7490, 2010.

FLINT, H. J. **The rumen microbial ecosystem - some recent developments.** Trends in Microbiology, v.5, n.12, p. 484-488. 1997.

FUJIHARA, T.; SHEM, M. N. **Metabolism of microbial nitrogen in ruminants with special reference to nucleic acids.** Animal Science Journal, v.82, p.198-208, 2011.

FUKUDA, E. K.; VASCONCELOS, A. F. D.; MATIAS, A. C.; BARBOSA, A. M.; DEKKER, R. F. H.; SILVA, M. L. C. **Polissacarídeos de parede celular fúngica: purificação e caracterização.** Semina: Ciência Agrária, v.30, n.1, p. 117-134, Jan/Mar, 2009.

GOFF, J. P. **Major Advances in Our Understanding of Nutritional Influences on Bovine Health.** J. Dairy Sci. n. 89, p.1292-1301. 2006.

GOMIDE, D. R. **Resposta Digestiva de bovinos a doses de levedura autolisada.** Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Lavras, UFLA, 2012.

GUEDES, C. M.; GONÇALVES, D.; RODRIGUES, M. A. M.; DIAS-DA-SILVA, A. **Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* yeast on ruminal fermentation and fibre degradation of maize silage in cows.** Ani. Feed and Sci. Techno. n. 145, p. 27-40, 2008.

GUO, J.; PENG, Y.; NI, B-J.; HAN, X.; FAN, L.; YAUN, Z. **Dissecting microbial community structure and methano-producing pathways of a full-scale anaerobic reactor digesting activated sludge from wastewater treatment by metagenomic sequencing.** Microbial Cell Factories, v. 14, n.33, 2015.

HARRISON, G. A.; HEMKEN; DAWSON, K. A.; HARMON, R. J.; BARKER, K. B. **Influence of addition of yeast culture supplement to diets of lactating cows on ruminal fermentation and microbial populations.** J. Dairy Sci., v. 71, n. 11, 1998.

HOBSON, P. N.; STEWART, C. S. **The rumen microbial ecosystem.** Blackie Academ y & Professional London, 1998.

HRISTOV, A. N.; VARGA, G.; CASSIDY, T.; LONG, M.; HEYLER, K.; KARNATI, S. K. R.; CORL, B.; HOVDE, C. J.; YOON, I. **Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on ruminal fermentation and nutrient utilization in dairy cows.** J. Dairy Sci., v. 93, n.2. p. 682-292. 2010.

HUNGATE, R. E. **The rumen and its microbes.** Academy Press, New York, 1966.

HUTJENS, M. F. **Feed additives: which, when and why.** Disponível em: <http://livestocktrail.illinois.edu/uploads/dairynet/papers/Spain%20Feed%20Additives.pdf>. Acesso em: 04/06/2015.

HUTJENS, M. F. **Feed additive: tools in your dairy ration.** Penn Station Workshop. Disponível em: <http://extension.psu.edu/animals/dairy/courses/dairy-cattle-nutrition-workshop/previous-workshops/2014/breakouts-and-special-sessions/feed-additives-tools-in-your-dairy-ration-slides>. Acesso em: 02/06/2015.

JENSEN, G. S.; PATTERSON, K. M.; YOON, I. **Nutritional yeast culture has specific anti-microbial properties without affecting healthy flora.** Journal of Animal And Feed Sciences, n. 17, p. 247-252. 2008.

JENSEN, G. S; HART, A. N.; SCHAUSS, A. G. **An antiinflammatory immunogen from yeast culture induces activation and alters chemokine receptor expression in human nature killer cells and B lymphocytes in vitro.** Nutrition Research, v. 27, n. 6, p. 327-325, 2007.

JOUANY, J. P. **Rumen microbial metabolism and ruminant digestion.** Versalhes, INRA, p. 239-261, 1991.

KEHOE, S. I.; HEINRICHS, A. J.; BAUMRUCKER, C. R.; GREGER, D. L. **Effects of nucleotide supplementation in milk replacer on small intestinal absorptive capacity in dairy calves.** Journal Dairy Science, v. 91, p. 2759-2770. 2008.

KHAMPA, S.; CHAOWARAT, P.; SINGHALERT, R.; WANAPAT, M. **Supplementation of malato and yeast in concentrate containing high cassava chip on rumen ecology in dairy steers.** Pakistan Journal of Nutrition, v. 8, n. 5, p. 592-596, 2009.

KUNG Jr., L.; HUBER, J. T.; KRUMMREY, J. D.; ALLISON, L.; COOK, R. M. **Influence of adding malic acid to dairy cattle rations on milk production, rumen volatile acids, digestibility and nitrogen utilization.** J. Dairy Sci, v.65, p. 1170-1174, 1982.

LYNCH, H. A.; MARTIN, S. A. **Effects of *Saccharomyces cerevisiae* culture and *Saccharomyces cerevisiae* live cells on in vitro mixed ruminal microorganism fermentation.** J. Dairy Sci., v.85, p. 2603-2608. 2002

LEAN, I. J.; GOLDER, H. M.; HALL, M. B. **Feeding, Evaluation, and Controlling rumen function.** Vet. Clin Food Anim, v.30 p. 539-575. 2014.

LUND, A. **Yeasts and moulds in the bovine rumen.** J.General Microbiology, 453-462. 1974.

MAGALHÃES, V. J. A.; SUSCA, F., LIMA, F. S.; BRANCO, A. F.; YOON, I.; SANTOS, J. E. P. **Effect of feeding yeast culture on performance, health and immunocompetence of dairy calves.** J. Dairy Sci. v. 91, n. 4, p. 1497-1509. 2008.

MAGNANI, M.; CASTRO-GÓMEZ, G. **β -glucana de *Saccharomyces cerevisiae*: constituição, bioatividade e obtenção.** Semina: Ciéncia Agrária, v. 29, n. 3, p. 631-650, Jul/Set 2008.

MARDEN, J. P.; JULIEN, C.; MONTELLS, V.; AUCLAIR, E.; MOSCOULON, R.; BAYOURTHE, C. **How does live yeast differ from sodium bicarbonate to stabilize ruminal pH in high-yielding dairy cows?** J. Dairy Sci, v.91, p. 3528-3535, 2008.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle.** 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington D.C. 2001.

NEWBOLD, J.; DOUGAL, K.; PINLOCHE, E. **Use of live yeast in animal diets; What do we know?** Disponível em: <http://www.allaboutfeed.net/Special-focus/Yeast-Special/Use-of-live-yeast-in-animal-diets-What-do-we-know/>. Acesso em: 20/05/2015.

NEWBOLD, C. J.; WALLACE, R. J.; McINTOSH, F. M. **Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants.** B. J. Nutr., n. 76, p. 249-261, 1996.

NOCEK, J. E.; HOLT, M. G.; OPPY, J. **Effects of supplementation with yeast culture and enzymatically hydrolyzed yeast on performance of early lactation dairy cattle.** J. Dairy Sci. v. 94, n. 8, p. 4046-4056. 2011.

NUSSIO, L. G.; CAMPOS, F. P.; DE LIMA, M. L. M. **Metabolismo de Carboidratos Estruturais. Cap. 7.** Nutrição de Ruminantes, 2. ed., Jaboticabal, Funep, 2011.

OEZTUERK, H.; SCHROEDER, B.; BEYERBACH, M.; BREVES, G. **Influence of living and autoclaved yeasts of *Saccharomyces boulardii* on in vitro ruminal microbial metabolism.** J. Dairy Sci., v. 88, n. 7, p. 2594-2600, 2005.

OLIVEIRA, B. M. L.; BITENCOURT, L. L.; SILVA, J. R. M.; DIAS JÚNIOR, G. S.; BRANCO, I. C. C.; PEREIRA, R. A. N.; PEREIRA, M. N. **Suplementação de vacas leiteiras com *Saccharomyces cerevisiae* cepa KA500.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v. 62, n. 5, p. 1174-1182. Out. 2010.

OPPY, G. D.; RABIEE, A. R.; LEAN, I. J.; SANCHEZ, W. K.; DORTON, K. L.; MORLEY, P. S. **A meta-analyses of the effects of feeding yeast culture produced by anaerobic fermentation *Saccharomyces cerevisiae* on milk production of lactating dairy cows.** J. Dairy Sci, v. 95, n. 10, p. 6027-6041, 2012.

OPSI, F.; FORTINA, R.; TASSONE, S.; BODAS, R.; LÓPEZ, S. **Effects of inactivated and live cells of *Saccharomyces cerevisiae* on in vitro ruminal fermentation of diets with different forage: concentrate ratio.** J. Agric. Sci. n. 150. p. 271-283, 2012.

PARDO-GAMBOA, B. S., QUINTERO-PINTO, L. G., PEZZATTO, SILVA, F. A., QUINTERO-PARDO, A. C. **Nutrientes digestíveis da Levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) Íntegra e Autolisada para Tilápis do Nilo (*Oreochromis niloticus*).** Revista Vet. Zootec. v.5, n.1, p. 26-38. 2011.

PARK, Y. W.; JUÁREZ, M.; RAMOS, M.; HAENLEIN, G. F. W. **Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk.** Small Ruminants Research, v. 68, p. 88-113, 2007.

PINTO, L. C.; LOPES, M. V., FILHO; C. D. C., ALVES; L. V. A., BENEVIDES; C. M. J. **Determinação do valor nutritivo de derivados de levedura de cervejaria (*Saccharomyces spp.*)** Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.15, n.1, p.18. 2013.

RAGALLER, V.; LEBZIEN, P.; SÜDEKUM, K. H.; HÜTHER, L.; FLACHOWSKY, G. **Pantothenic acid in ruminant nutrition: a review.** J. Ani. Phys. Ani. Nutrit. v. 95, p. 6-16, 2011.

ROBINSON, P. H., ERASMUS, L. J. **Effects of analizable diet components on response of lactating dairy cows to *Saccharomyces cerevisiae* based yeast products: A systematic review of the literature.** Animal Feed Science and Technology v. 149, p. 185-198. Mar, 2009.

ROBINSON, P. H. **Yeast products for growing and lactating ruminants: a literature summary of impacts on rumen fermentation and performance.** Disponível em: <http://animalscience.ucdavis.edu/faculty/robinson/Articles/FullText/pdf/Web200901.pdf>. Acesso em 06/05/2015.

RODRIGUEZ-PRADO, M.; BORDA, E.; NOFRARIAS, M.; SANCHEZ, C.; CALSAMIGLIA, S. **The effect of feeding nucleotides on milk production, reproductive performance and immunity in lactating Holstein dairy cows.** J. Animal Sci, v. 93, suppl. s3/J, Jul, 2015.

RUSSELL, J. B. **Rumen Microbiology and Its Role in Ruminant Nutrition.** Ythaca, NY. 2002

SALVATI, G. G. S., JUNIOR, N. N. M., MELO, A. C. S., VILELA, R. R., CARDOSO, F. F., ARONOVICH, M., PEREIRA, R. A. N., PEREIRA, M. N. **Response of lactating cows to live yeast supplementation during summer.** J. Dairy Sci. v. 98, n. 6, p. 4062-4073. Jun, 2015

SANTOS, J. E. P.; GRECO, L. F. **Levedura viva e cultivo de leveduras em dietas de bovinos leiteiros.** II Simpósio Internacional em Formulação de Dietas para Gado de Leite. UFLA, 2012.

SANTOS, F. A. P.; PEDROSO, A. M. **Metabolismo de Proteínas, cap. 9.** Nutrição de Ruminantes, 2. ed., Jaboticabal, Funep, 2011.

SEJRSEN, K.; HVELPLUND, T.; NIELSEN, M. O. **Ruminant physiology – Digestion, metabolism, and impact of nutrition on gene expression, immunology and stress.** Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, 2008.

SILANIKOVE, N. **Effects of water scarcity and hot environment on appetite and digestion in ruminants: a review.** Livestock Production Science, v. 30, n. 3, p. 175-194, 1992.

SGARBIERI, V. C.; ALVIN, I. D.; VILELA, E. S.; BALDINI, V. L. S. BRAGAGNOLO, N. **Produção piloto de derivados de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) para uso como ingrediente na formulação de alimentos.** Brazilian Journal of Food and Technology, v. 2, n. 1,2, p. 119-125, 1999.

STONE, C. W. **Yeast Products in the Feed Industry: A Practical Guide for Feed Professionals,** 2006 Disponível em: <http://en.engormix.com/MA-feed-machinery/formulation/articles/yeast-products-feed-industry-t243/800-p0.htm>. Acesso em: 09/06/2015.

St-PIERRE, N. R.; COBANOV, B.; SCHITKEY, G. **Economic losses from heat stress by US livestock industry.** J. Dairy Sci. v. 86, supplem., p. E52-E77, 2003.

THRUNE, M., BACH, A., RUIZ-MORENO, M., STERN, M. D., LINN, J. G. **Effects of *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal pH and microbial fermentation in dairy cows Yeast supplementation on rumen fermentation.** Livestock Science 124 p.261-265, 2009.

TURCO, S. H. N.; SILVA, T. G. F.; DOS SANTOS, L. F. C.; RIBEIRO, P. H. B.; ARAÚJO, G. G. L.; TEIXEIRA, A. H. C.; HOLANDA, E. V.; AGUIAR, M. A. **Zoneamento bioclimático para vacas leiteiras no estado da Bahia.** Eng. Agrícola, v. 26, n.1, 2006.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant.** 2. ed. Cornell University Press, 1994.

VILELA, E. S. D.; SGARBIERI, V. C.; ALVIM, I. D. **Determinação do valor protéico de células íntegras, autolisado total e extrato de levedura (Saccharomyces sp.)** Rev. Nutr. n. 13, v. 3, p. 185-192. Set./Dez. 2000.

VANDENPLAS, Y.; HUYS, G.; DAUBE, G. **Probiotics: an update.** J. Pediatria, n. 91, v. 1, p. 6-21. 2015.

WALLACE, R. J. **Ruminal microbiology, biotechnology, and ruminant nutrition: progress and problems.** J. Dairy Sci., v. 72, n. 11, p. 2992-3003. 1994.

WALLACE. J. **The big quest: How does live yeast work in animal feed?** Disponível em: <http://www.allaboutfeed.net/Special-focus/Yeast-Special/The-big-quest-How-does-live-yeast-work-in-animal-feed/>. Acesso em: 20/05/2015.

WAZLIEWICZ-ROBAK, B. **Spent Brewer's Yeast and Beta-Glucans Isolated From Them as Diet Components Modifying Blood Lipid Metabolism Disturbed by an Atherogenic Diet.** Lipid Metabolism, Prof. Rodrigo Valenzuela Baez (Ed.), InTech.. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/lipid-metabolism/spent-brewer-s-yeast-and-beta-glucans-isolated-from-them-as-diet-components-modifying-blood-lipid-me>. Acesso em 27/05/2015.

WEATHERLY, M. E.; GEHMAN, A. M.; LISEMTEE, A. M.; CLARK, J. D.; BALL, L. L.; BEWLEY, J. M. **Ruminal and production effects of supplementing high and low forages dairy rations with live yeast culture.** J. Animal Sci. v.93, suppl. S3/J, Jul, 2015.

WHEELOCK, J. B.; RHOADS, R. P.; VanBAALE, S. R.; BAUMGARD, L. H. **Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows.** J. Dairy Sci. v. 93, n. 2, p. 644-655, 2010.

ZEOULA, L. M.; GERON, L. J. V. **Vitaminas, cap. 13.** Nutrição de Ruminantes, 2. ed., Jaboticabal, Funep, 2011.

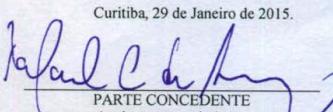
YAMADA, E. A., ALVIM, I. D., SANTUCCI, M. C. C., SGARBIERI, V. C. **Composição centesimal e valor protéico de levedura residual da fermentação etanólica e de seus derivados.** Rev. Nutr., Campinas, v.16, n. 4, p.423-432, out./dez., 2003.

YOON, I. K.; STERN, M. D. **Influence of direct-fed microbials on ruminal microbial fermentation and performance of ruminants: a review.** Asian-Aus. J. Anim. Sci, v. 8, n. 6, p. 533-555, 1995.

ZAWORSKI, E. M., SHRIVER-MUNSCH, FADDEN, N. A., SANCHEZ, W. K., YOON, I., BOBE, G. **Effects of feeding various dosages of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product in transition dairy cows.** J. Dairy Sci. v. 97, ed. 5, p. 3081–3098, Mai 2014.

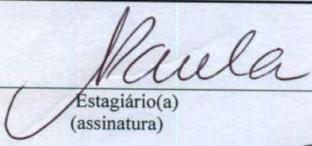
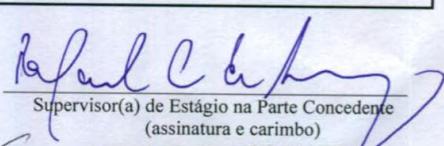
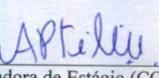
ANEXOS

Anexo 1. Termo de Compromisso de Estágio

| | |
|--|--|
| | <p>ESTÁGIO EXTERNO</p> <p style="text-align: center;">TERMO DE COMPROMISSO DE ESTÁGIO CELEBRADO ENTRE A PARTE CONCEDENTE E O ESTUDANTE DA UFPR</p> <p>A GRASP Indústria e Comércio LTDA, sediada à Rua Grã Nicco, nº 113, bloco 04, andar 03, Cidade de Curitiba, CEP 81200-200, CNPJ 04.613.547/0002-02, Fone (41) 3308-8690 doravante denominada Parte Concedente por seu representante RAFAEL CANONENCO DE ARAUJO e de outro lado, SIDNEIA DE PAULA, RG nº 11.045.542-9, CPF 254.893.498-59, estudante do 5º ano do Curso de Zootecnia, Matrícula nº 20104947, residente à Rua Valentim Gulin, nº 215 na Cidade de Curitiba, Estado do Paraná, CEP 82630-310, Fone 3203-8868, Data de Nascimento 22 / 04 / 1978, doravante denominado Estudante, com interveniência da Instituição de Ensino, celebram o presente Termo de Compromisso em consonância com o Art. 82 da Lei nº 9394/96 – LDB, da Lei nº 11.788/08 e com a Resolução nº 46/10 – CEPE/UFPR, demais normativas institucionais e mediante as seguintes cláusulas e condições:</p> <p>CLÁUSULA PRIMEIRA - As atividades a serem desenvolvidas durante o Estágio constam de programação acordada entre as partes – Plano do Estágio no verso – e terão por finalidade propiciar ao Estudante uma experiência acadêmico-profissional em um campo de trabalho determinado, visando: a) o aprimoramento técnico-científico em sua formação; b) a maior proximidade do aluno, com as condições reais de trabalho, por intermédio de práticas afins com a natureza e especificidade da área definida nos projetos políticos pedagógicos de cada curso. c) a realização de Estágio (X) OBRIGATÓRIO ou () NÃO OBRIGATÓRIO.</p> <p>CLÁUSULA SEGUNDA - Nos termos da Lei nº 11.788/08, as atividades do estágio não poderão iniciar antes de o Termo de Compromisso de Estágio ter sido assinado por todos os signatários indispensáveis, não sendo reconhecido, validado e remunerado, com data retroativa;</p> <p>CLÁUSULA TERCEIRA - O estágio será desenvolvido no período de 23 / 02 / 2015 a 12 / 06 / 2015, no horário das 12:00 às 18:00 h, num total de 30 h semanais, (não podendo ultrapassar 30 horas), compatíveis com o horário escolar, podendo ser prorrogado por meio de emissão de Termo Aditivo não ultrapassando, no total do estágio, o prazo máximo de 02 anos;</p> <p>Parágrafo Primeiro - Cada renovação de estágio está condicionada à aprovação do relatório de atividades do período anterior pelo Professor(a) Orientador(a) da Instituição de Ensino. O relatório deverá conter a assinatura do Supervisor de Estágio da Parte Concedente e do Estagiário.</p> <p>Parágrafo Segundo - Em caso do presente estágio ser prorrogado, o preenchimento e a assinatura do Termo Aditivo deverá ser providenciado antes da data de encerramento, contida na Cláusula Terceira neste Termo de Compromisso;</p> <p>Parágrafo Terceiro - Em período de recesso escolar, o estágio poderá ser realizado com carga horária de até 40 horas semanais, mediante assinatura de Termo Aditivo, específico para o período, para contratos ainda em vigência.</p> <p>Parágrafo Quarto - Nos períodos de avaliação ou verificações de aprendizagem pela Instituição de Ensino, o estudante poderá solicitar à Parte Concedente, redução de carga horária, mediante apresentação de declaração, emitida pelo Coordenador(a) do Curso ou Professor(a) Orientador(a), com antecedência mínima de 05 (cinco) dias úteis.</p> <p>CLÁUSULA QUARTA - Na vigência deste Termo de Compromisso o Estudante será protegido contra Acidentes Pessoais, providenciado pela Universidade Federal do Paraná e representado pela Apólice nº 0000484 da Companhia Gente Seguradora.</p> <p>CLÁUSULA QUINTA - Durante o período de Estágio Não Obrigatório, o estudante receberá uma Bolsa Auxílio, no valor de _____, bem como auxílio transporte () paga mensalmente pela Parte Concedente.</p> <p>Parágrafo Único - Durante o período de Estágio Obrigatório o estudante () receberá ou não receberá (X) bolsa auxílio no valor de _____.</p> <p>CLÁUSULA SEXTA - Caberá ao Estudante cumprir a programação estabelecida, observando as normas internas da Parte Concedente, bem como, elaborar relatório referente ao Estágio a cada 06 (seis) meses e ou quando solicitado pela Parte Concedente ou pela Instituição de Ensino;</p> <p>CLÁUSULA SÉTIMA - O Estudante responderá pelas perdas e danos decorrentes da inobservância das normas internas ou das constantes no presente contrato;</p> <p>CLÁUSULA OITAVA - Nos termos do Artigo 3º da Lei nº 11.788/08, o Estudante não terá, para quaisquer efeitos, vínculo empregatício com a Parte Concedente;</p> <p>CLÁULULA NONA - Constituem motivo para interrupção automática da vigência do presente Termo de Compromisso de Estágio; a) conclusão ou abandono do curso e o trancamento de matrícula; b) solicitação do estudante; c) não cumprimento do convencionado neste Termo de Compromisso. d) solicitação da Parte Concedente e) solicitação da Instituição de Ensino, mediante aprovação da COE do Curso ou Professor(a) Orientador(a).</p> <p>E, por estar de inteiro e comum acordo com as condições deste Termo de Compromisso, as partes assinam em 04 (quatro) vias de igual teor, podendo ser denunciado a qualquer tempo, unilateralmente, e mediante comunicação escrita.</p> <p style="text-align: center;">Curitiba, 29 de Janeiro de 2015.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <p> PARTE CONCEDENTE (assinatura e carimbo) GRASP IND. E COM. LTDA  COORDENADOR(A) DO CURSO – UFPR (assinatura e carimbo) Romário de Almeida Teixeira coordenador do Curso de Zootecnia UFPR - Matrícula 201825</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p> ESTAGIÁRIO(A) (assinatura)  COORDENAÇÃO GERAL DE ESTÁGIOS (assinatura e carimbo) Eliane Cristina Oliveira Matrícula SIAD/200618 UFPR/PROGRAD/CGE</p> </div> </div> |
|--|--|

ANEXOS

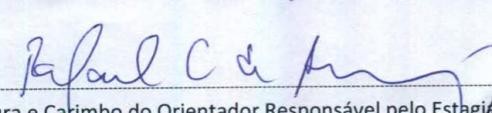
Anexo 2. Plano de Estágio

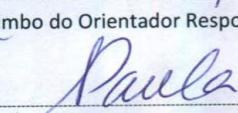
| | |
|--|---|
| | ESTÁGIO EXTERNO |
| PLANO DE ESTÁGIO Resolução Nº 46/10-CEPE | |
| <input checked="" type="checkbox"/> ESTÁGIO OBRIGATÓRIO | <input type="checkbox"/> ESTÁGIO NÃO OBRIGATÓRIO |
| OBSERVAÇÃO: É OBRIGATÓRIO O PREENCHIMENTO DO PLANO DE ESTÁGIO | |
| 01. Nome do(a) estagiário(a): SIDNEIA DE PAULA 02. Nome do supervisor de estágio na Parte Concedente: RAFAEL CANONENCO DE ARAUJO 03. Formação profissional do supervisor: Eng. Agrônomo, Dr. em Nutrição de Ruminantes, Supervisor de P&D Divisão Ruminantes, GRASP Ind. e Com. LTDA 04. Ramo de atividade da Parte Concedente: Nutrição Animal, Aditivos 05. Área de atividade do(a) estagiário(a): 06. Atividades a serem desenvolvidas: | |
| - Revisão bibliográfica relacionada cofatores nutricionais que limitam a síntese de proteína microbiana no rúmen de vacas leiteiras de alta produção (minerais, vitaminas, ácidos graxos de cadeia ramificada, peptídeos, etc); - Revisão bibliográfica sobre substâncias aromatizantes e palatabilizantes que estabilizem ou aumentem o consumo de vacas leiteiras; - Revisão bibliográfica relacionada a aditivos que possam promover melhor resposta do sistema imune animal; - Visitas técnica em propriedades com rebanhos leiteiros; - Acompanhamento do processo fabril na produção de aditivos da empresa. | |
| A SER PREENCHIDO PELA COE | |
| 07. Professor Orientador – UFPR (Para emissão de certificado) | |
| a) Número de horas da orientação no período: b) Número de estagiários concomitantes com esta orientação: | |
|  Estagiário(a) (assinatura) |  Supervisor(a) de Estágio na Parte Concedente (assinatura e carimbo) GRASP IND. E COM. LTDA |
| Professor(Orientador(a) – UFPR (assinatura e carimbo) | |
|  Ananda P. Félix Profº Nutrição Animal UFPR | |
| Comissão Orientadora de Estágio (COE) do Curso (assinatura e carimbo) | |

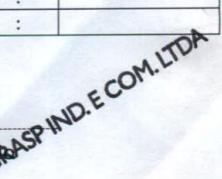
ANEXOS

Anexo 3. Ficha de Frequência de Estágio.

|  SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ COORDENAÇÃO DO CURSO DE ZOOTECNIA CAMPUS I AGRÁRIAS SCA-SETOR DE CIÉNCIAS AGRÁRIAS CEP: 80035-050 – CURITIBA-PR TELEFONE: (041) 3350-5769 E-MAIL: cursozootecnia@ufpr.br | | | | | | | | |
|---|-----|------|---------|-------|---------|---------|-------|---------|
| FICHA DE FREQUENCIA DE ESTÁGIO | | | | | | | | |
| DIA | MÊS | ANO | ENTRADA | SAÍDA | RÚBRICA | ENTRADA | SAÍDA | RÚBRICA |
| 23 | 02 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 24 | 02 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 25 | 02 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 26 | 02 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 27 | 02 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 01 | 03 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 03 | 03 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 04 | 03 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 05 | 03 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 06 | 03 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 07 | 03 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 10 | 03 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 11 | 03 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 12 | 03 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 13 | 03 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 16 | 03 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 17 | 03 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 18 | 03 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 19 | 03 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 20 | 03 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 23 | 03 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 24 | 03 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 25 | 03 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 26 | 03 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 27 | 03 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 30 | 03 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 31 | 03 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 01 | 04 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 02 | 04 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 06 | 04 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 07 | 04 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 08 | 04 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |
| 09 | 04 | 2015 | 12:00 | 18:00 | # | : | : | |


 Assinatura e Carimbo do Orientador Responsável pelo Estagiário

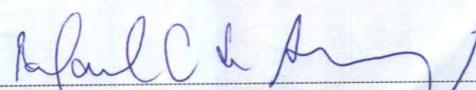

 Assinatura do Estagiário



ANEXOS

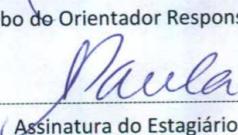
Anexo 4. Ficha de Frequência de Estágio.

| DIA | MÊS | ANO | ENTRADA | SAÍDA | RÚBRICA | ENTRADA | SAÍDA | RÚBRICA |
|-----|-----|------|---------|-------|---------|---------|-------|---------|
| 10 | 04 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 13 | 04 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 14 | 04 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 15 | 04 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 16 | 04 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 17 | 04 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 22 | 04 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 23 | 04 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 24 | 04 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 27 | 04 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 28 | 04 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 29 | 04 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 30 | 04 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 04 | 05 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 05 | 05 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 06 | 05 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 07 | 05 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 08 | 05 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 11 | 05 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 12 | 05 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 13 | 05 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 14 | 05 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 15 | 05 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 18 | 05 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 19 | 05 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 20 | 05 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 21 | 05 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 22 | 05 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 25 | 05 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 26 | 05 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 27 | 05 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 28 | 05 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |
| 29 | 05 | 2015 | 12:00 | 18:00 | A | : | : | |



Assinatura e Carimbo do Orientador Responsável pelo Estagiário

GRASP IND. E COM. LTDA



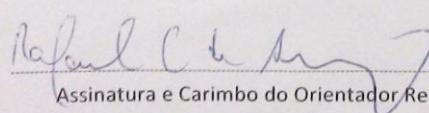
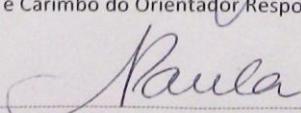
Assinatura do Estagiário

ANEXOS

Anexo 5. Ficha de Frequência de Estágio.

ANEXOS

Anexo 6. Ficha de Avaliação do Estagiário.

| | |
|--|------------------------------|
|  SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ COORDENAÇÃO DO CURSO DE ZOOTECNIA CAMPUS I AGRÁRIAS SCA-SETOR DE CIÉNCIAS AGRÁRIAS CEP: 80035-050 – CURITIBA-PR TELEFONE: (041) 3350-5769 E-MAIL: cursozootecnia@ufpr.br | |
| <u>FICHA DE AVALIAÇÃO DE ESTÁGIARIO</u> | |
| 5.1 ASPECTOS TÉCNICOS Atribuir Pontuação de 01 a 10 | |
| 5.1.1 - Qualidade do trabalho | (10) |
| 5.1.2 Conhecimento Indispensável ao Cumprimento das Tarefas | Teóricas (10) |
| | Práticas (10) |
| 5.1.3 Cumprimento das Tarefas | (10) |
| 5.1.4 Nível de Assimilação | (10) |
| 5.2 ASPECTOS HUMANOS E PROFISSIONAIS Atribuir Pontuação de 01 a 10 | |
| 5.2.1 Interesse no trabalho | (10) |
| 5.2.2 Relacionamento | Frente aos Superiores (10) |
| | Frente aos Subordinados (10) |
| 5.2.3 Comportamento Ético | (10) |
| 5.2.4 Disciplina | (10) |
| 5.2.5 Merecimento de Confiança | (10) |
| 5.2.6 Senso de Responsabilidade | (10) |
| 5.2.7 Organização | (10) |
| 04 613 547/0001 13 | |
| GRASP INDÚSTRIA E COMÉRCIO LTDA. | |
| Rua Angela Gabardo Parolin, 901 Campo de Santana 81945-020 Curitiba (PR) | |
|  Assinatura e Carimbo do Orientador Responsável pelo Estagiário | |
|  Assinatura do Estagiário | |