Artigo

EFEITO DE DIFERENTES MÉTODOS DE COLETA SOBRE OS RESULTADOS DE ANÁLISE DO LEITE IN NATURA

Effect of different sample collection methods on the results of raw milk analysis

Jakeline Fernandes CABRAL[1]
Marco Antônio Pereira da SILVA[2*]
Rafaella Belchior BRASIL[1]
Thiago Soares CARVALHO[1]
Cristiane Isabô GIOVANNINI[3]
Edmar Soares NICOLAU[4]

RESUMO

A coleta de amostras de leite in natura deve ser criteriosa, para que possa refletir a real composição, sendo que, metodologias diferentes de coleta, podem causar variações nos componentes do leite. Dessa forma, objetivou-se com este trabalho, avaliar os efeitos de diferentes métodos de coleta do leite in natura sobre a composição química e contagem de células somáticas. Foram coletadas 492 amostras de leite in natura de vacas mestiças em uma propriedade leiteira no Município de Rio Verde, Goiás. Foram utilizadas duas metodologias para a coleta das amostras, sendo a primeira um pool de amostra de leite in natura e a segunda uma amostra completa (40 mL) da primeira ordenha. Os resultados evidenciaram que o método de coleta não alterou os valores de CCS, proteína, lactose e caseína. Os percentuais de gordura, sólidos totais e as concentrações de uréia no leite foram influenciados pelos métodos de coleta, demonstrando a importância da padronização das coletas de amostras de leite de rebanhos leiteiros, garantindo assim a confiabilidade dos dados obtidos.

Palavras-chave: leite de conjunto; composição química; propriedade leiteira; métodos de amostragem; contagem de células somáticas.

ABSTRACT

The collection of samples of raw milk shall be careful to reflect their actual composition, and different methods of collection, may lead to variations in levels of milk components. The aim of this study was to evaluate the effect of different methods of milk sampling on the chemical composition and somatic cell count. Milk samples were taken from 492 cows in a dairy farm of Rio Verde, state of Goiás, Brazil. Two sampling methodologies were used: a pool-sample and a complete sample (40 mL) of the first a pool of milk sample and the second a complete sample (40 mL) of the first milking. Results showed that the method of collection not change the values of SCC,

1 Zootecnista, Mestre em Zootecnia pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Rio Verde, Rio Verde, Goiás, Brasil. E-mail: kell-f@hotmail.com
2 Doutor em Ciência Animal. Professor do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Rio Verde, Rio Verde, Goiás, Brasil. E-mail:marcotonyrv@yahoo.com.br
3 Médica Veterinária, Mestre em Zootecnia pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Câmpus Rio Verde, Rio Verde, Goiás, Brasil.E-mail: cris_isabo@yahoo.com.br
4 Doutor em Engenharia de Alimentos. Professor do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil. E-mail: rena@cpa.vet.ufg.br
* Autor para correspondência:Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Câmpus Rio Verde Rodovia Sul Goiana, Km 01, Caixa Postal 66, Zona Rural, Rio Verde,Goiás, Brasil. CEP 75.901-970. E-mail:marcotonyrv@yahoo.com.br

Recebido/ Received: 29/04/2013
Aprovad / Approved:16/08/2013

protein, lactose and casein. The fat, total solids and urea were influenced by sampling methods, demonstrating the importance of standardization of the milk samples collection from dairy herds, to ensure the reliability of results.

Keywords: bulk milk; chemical composition; dairy farm; sampling methods; somatic cell count.

1 INTRODUÇÃO

O leite deve apresentar composição química (sólidos totais, gordura, proteína, lactose e minerais), microbiológica (contagem total de bactérias), sensorial (sabor, odor, aparência) e número de células somáticas (CS) que atendam aos parâmetros exigidospela legislação (ZANELA, 2006), que estipula os teores mínimos de gordura, proteína bruta e sólidos desengordurados de 3,0 g/100 g, 2,9g/100 g, e 8,4g/100 g,respectivamente e contagem de células somáticas (CCS) de até 600 mil CS/mL (BRASIL, 2011).

A produção e a composição físico-química do leite variam segundo diversos fatores, tais como: individualidade, raça, alimentação, estágio da lactação, idade, temperatura ambiental, estação do ano, fatores fisiológicos (gestação, ciclo estral), patológicos (mastite), persistência da lactação, tamanho da vaca e intervalo entre ordenhas (WEISS et al., 2002).

A qualidade da matéria-prima com base nos parâmetros indicativos de rendimento (extrato seco total) ou da saúde do rebanho (contagem de células somáticas) está se tornando prática de pagamento diferenciado do leite por indústrias de laticínios.Diante do exposto, a coleta de amostras de leite *in natura* deve ser criteriosa para que possam refletir a sua real composição. Metodologias diferentes de coleta podem causar variações nos componentes do leite, produzindo resultados desiguais na análise laboratorial de uma mesma amostra. Portanto, objetivou-se com este trabalho, avaliar os efeitos de diferentes métodos de coleta do leite *in natura* sobre a composição físico-química e contagem de células somáticas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada em uma propriedade leiteira localizada no município de Rio Verde no Sudoeste do Estado de Goiás no período de março de 2012 a maio de 2012. Foram coletadas amostras de leite *in natura* de 82 vacas mestiças totalizando 492 amostras, utilizando dois métodos de amostragem.

Os animais foram submetidos a duas ordenhas diárias, sendo o sistema de ordenha mecanizado tipo escama de peixe, com circuito fechado e seis conjuntos dotados de coletores. A ordenha da manhã iniciou às quatro horas e a ordenha da tarde às 16 horas.

Foi fornecida ração concentrada durante a ordenha, de fabricação própria da propriedade, composta por farelo de soja, milheto e/ou milho, núcleo (comercial), uréia, sal comum e bicarbonato. Após a ordenha, as vacas permaneceram em piquetes rotacionados alimentando-se de capim do gênero *Brachiaria decumbens* com acesso a sal mineral *ad libitum.*

Amostragem do leite *in natura*

O procedimento de coleta das amostras de leite seguiu as normas de ordenha com boas práticas, com descarte dos três primeiros jatos de leite em caneca de fundo preto telado para detecção de mastite clínica. Os tetos quando necessário foram higienizados com água e limpos com papel toalha. Em seguida com o auxílio de um aplicador com retorno, foram imersos em solução pré-dipping a base de iodo glicerinado a 0,25% (m/v).

Após a higienização dos tetos, as teteiras foram acopladas para a completa ordenha do leite. Após a ordenha ininterrupta uma quantidade proporcional da quantidade total do leite foi armazenada nos coletores individuais, em seguida mensurada a produção. Para a coleta das amostras de leite foram utilizados frascos de 40 mL contendo conservante Bronopol®. Foram utilizadas duas metodologias para a coleta das amostras, sendo a primeira um *pool* de amostra de leite *in natura* e a segunda uma amostra independente (40 mL) na primeira ordenha do dia.

Para realização do estudo foram coletadas amostras de leite durante seis semanas consecutivas, sendo que nas três primeiras semanas a amostragem do leite foi realizada na proporção de 2/3 na ordenha da manhã mais um 1/3 na ordenha da tarde no mesmo frasco. Nas três semanas seguintes, realizou-se a amostragem do leite da ordenha da manhã, preenchendo por completo o frasco de 40 mL.

Observou-se, nos três meses anteriores, que a variação do volume de leite produzido diariamente obedecia à seguinte proporção: 2/3 pela manhã e 1/3 pela tarde. Assim, a amostragem do *pool* foi realizada respeitando-se as mesmas proporções. Ao término da ordenha, foi aplicada a solução pós-ordenha, cuja base foi o iodo glicerinado a 0,25% (m/v).

O leite acondicionado nos frascos de análise foram homogeneizados e armazenados em caixas isotérmicas contendo gelo e transportados para o Laboratório de Qualidade do Leite do Centro de Pesquisa em Alimentos da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, onde foram submetidos às análises eletrônicas, através de radiação infravermelha para determinação dos componentes do leite.

Avaliação da Qualidade do Leite

Composição química

Os teores de gordura, proteína, lactose, extrato seco total (EST) e extrato seco desengordurado (ESD) foram determinados pelo princípio analítico que se baseia na absorção diferencial de ondas

infravermelhas pelos componentes do leite, utilizando-se o equipamento Milkoscan 4000 (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark). Os resultados foram expressos em g/100 g.

Os teores de uréia e caseína foram determinados pela absorção diferencial de ondas infravermelhas, transformada por Fourier - FTIR, utilizando o equipamento Lactoscope (Delta instruments). Os resultados do teor de caseína foram expressos em g/100 g e os resultados dos teores de uréia foram expressos em mg/dL.

Contagem de células somáticas

A análise de células somáticas (CS), por citometria de fluxo foi realizada no equipamento Fossomatic 5000 Basic (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark). O resultado foi expresso em CS/mL.

Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), e os dados coletados foram submetidos à análise de variância considerando-se os efeitos das diferentes metodologias de coleta das amostras de leite. Para CCS, devido à falta de distribuição normal, foi realizada a transformação dos dados utilizando-se a função logarítmica. Em seguida, realizou-se a análise de variância, e para comparação das médias dos grupos experimentais, utilizou-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade, com uso do software SISVAR (FERREIRA, 2003).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a avaliação dos dados obtidos e análise do coeficiente de variação (CV) pode-se confirmar a precisão experimental dos resultados. As variáveis que apresentaram maior instabilidade no estudo foram os teores de gordura e uréia, com CV de 20,03% e 24,05 %, respectivamente (Tabela 1).

Os teores de proteína, lactose, ESD e caseína das amostras de leite do rebanho (Tabela 1), não diferiram significativamente ($p<0,05$). Os resultados de 3,25 g/100 g e 3,31g/100 g de proteína, 8,85g/100 g e 8,85g/100 g de ESD, que se referem respectivamente a *pool* e amostra independente, ficaram próximos aos valores mínimos estabelecidos pela legislação brasileira, que recomenda 3,0g/100 g para proteína e 8,4g/100 g para ESD (BRASIL, 2011).

Os resultados de CCS também não diferiram ($p<0,05$) entre as diferentes metodologias de coleta que foram de 236 mil CS/mL e 220 mil CS/mL respectivamente, situando-se dentro dos valores estipulados pela Instrução Normativa Nº 62, que prevê limite máximo de 600 mil CS/mL (BRASIL, 2011).

Ao analisar os resultados obtidos pelos distintos métodos utilizados para a coleta de amostras de leite *in natura*, observa-se que a concentração de gordura nas amostras independentes, foram superiores (média =3,59g/100 g) às amostras obtidas através de *pool* (média = 3,26g/100 g, $p<0,05$). Esta diferença pode ter ocorrido devido ao aumento do consumo de forragem no final da tarde e início da noite, onde a temperatura está mais amena.

A gordura é o componente do leite que tem a maior amplitude de variação. Na dependência da dieta fornecida aos animais, a gordura pode variar de duas a três unidades percentuais (PERES, 2001). Cerca de 17% a 45% da gordura do leite é formada por acetato e 8% a 25% de butirato, sendo que a falta de fibra deprime a formação de acetato no rúmen que resulta na produção de leite com baixa concentração de gordura (2g/100 g a 2,5g/100 g) (WATTIAUX, 2005). Deste modo, o teor de gordura do leite depende principalmente do teor de fibra da dieta (OLIVEIRA; FONSECA, 1999).

Reis et al. (2007), em estudo semelhante, obtiveram divergências nos percentuais de gordura nas amostras coletadas pelo sistema de ordenha mecânica. Quando as amostras foram coletadas apenas no período da manhã, os valores foram subestimados com média de 3,44g/100 g e no período da tarde superestimados

TABELA 1 –Composição química e contagem de células somáticas de amostras de leite *in natura*, coletadas de pool de ordenhas (manhã e tarde) e uma ordenha.

	Amostras		
Composição	**Pool de ordenhas**	**Ordenha da manhã**	**CV (%)**
Gordura (g/100 g)	3,26 [b]	3,59 [a]	20,03
Proteína (g/100 g)	3,25 [a]	3,31 [a]	14,14
Lactose (g/100 g)	4,75 [a]	4,73 [a]	9,24
ESD (g/100 g)	8,85 [a]	8,85 [a]	5,72
EST (g/100 g)	12,12 [b]	12,45 [a]	7,87
Caseína (g/100 g)	2,60 [a]	2,54 [a]	19,54
Uréia (mg/dL)	16,60 [a]	14,21 [b]	24,05
CCS (x 1000 CS/mL)	236 [a]	220 [a]	18,29

Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem estatisticamente entre si ($p<0,05$). ESD = Extrato Seco Desengordurado; EST= Extrato Seco Total.

com média de 4,49g/100 g. Sendo assim para obter resultados com maior precisão os autores recomendam que as amostras deveriam ser coletadas de manhã e à tarde para realizar um *pool*.

Estudos demonstraram que o horário da ordenha interfere de modo considerável na quantidade de gordura do leite (QUIST et. al, 2008). Amostras de leite coletadas em três ordenhas diárias com intervalos iguais de oito horas produziram teores superiores de gordura nos período da tarde e no período noturno, diferenciando estatisticamente quando comparados com os teores de gordura do leite coletado no período da manhã, 3,36g/100 g, 3,69g/100 g e 3,28g/100 g, respectivamente (FAVA et al., 2011). Esses valores podem ter ocorrido devido ao maior volume de leite acumulado dentro do úbere no período da manhã causando uma diluição da gordura (REIS et al., 2007).

Resultados semelhantes foram observados por Mendes et al. (2010) que associaram este efeito a nutrição das vacas, pois quando é ofertada maior quantidade de concentrado em relação ao volumoso ocorre um aumento da proporção de ácido propiônico em relação aos ácidos acético e butírico, causando uma redução da gordura por diluição.

Todavia, Fava et al. (2011) verificaram resultados diferentes, observando que o fator de diluição não explica o menor rendimento dos componentes do leite. Embora as amostras tenham sido coletadas em intervalos iguais as mesmas não foram mensuradas para o efeito de comparação entre volume e composição.

Na coleta de amostra que representa o *pool*, o valor médio de produção representou o maior volume de leite, correspondendo a 19 litros/dia, e no método de amostra independente, representa uma menor média de produção por litro na fase experimental. Os resultados de gordura podem estar relacionados diretamente com o volume de leite produzido, pois os valores correspondentes ao primeiro método (*pool)* são menores do que os valores obtidos no método independente de amostragem.

O EST cujos valores foram de 12,12g/100 g e 12,45g/100 g para *pool* e manhã respectivamente, diferiram significativamente ($p<0,05$). Essa diferença tem relação com o nível de gordura observado neste estudo. Reis et al. (2007) também obtiveram diferença nos percentuais de EST, relacionados à variação dos percentuais de gordura.

Os resultados de Rutledge et al. (1971) revelaram que a gordura é negativamente relacionada com a produção de leite e positivamente com os níveis de EST, aumentando gradativamente o teor com o avanço da lactação.

Os níveis de uréia diferiram entre as metodologias, as amostras de leite coletadas de uma ordenha apresentaram menor concentração (14,21 mg/dL) em relação ao *pool* (16,60 mg/dL) respectivamente.

A concentração de nitrogênio uréico no leite (NUL) é uma ferramenta útil para avaliar se o rebanho leiteiro está sendo alimentado com quantidades adequadas de proteína. No entanto, deve levar em consideração se a relação entre proteína degradável e não-degradável na dieta está ideal, ou ainda, se o balanço entre o consumo de proteína e energia pelas vacas está adequado (CARLSSON; PEHRSON, 1994).

Os teores de uréia do leite segundo Gonzáles et al. (2003) encontram-se entre a média de 12 mg/dL a 18 mg/dL. Níveis abaixo de 12 mg/dL e acima de 18 mg/dL, podem refletir um inadequado manejo nutricional.

4 CONCLUSÕES

Os teores de gordura, sólidos totais e uréia variaram em função do método de amostragem. No entanto, as amostras de leite de uma ordenha podem superestimar os resultados, logo numericamente esses valores foram maiores que os valores observados no método de *pool*.

Os resultados demonstraram a importância da padronização das coletas de amostras de leite de rebanhos leiteiros, garantindo assim a confiabilidade dos resultados.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Aprova o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel, em conformidade com os Anexos desta Instrução Normativa. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 31 dez. 2011. Seção 1, p. 6.

CARLSSON, J.; PEHRSON, B. The Influence of the dietary balance between energy and protein on milk urea concentration.experimental trials assessed by two different protein evaluation systems. **Acta Veterinaria Scandinavica,** Copenhagen, v.35, n.2, p.193-205, 1994.

FAVA, L.W; GUIMARÃES, T.G.; PINTO, A.T. Efeito de três ordenhas diárias na composição do leite de vacas da raça holandês. **Acta Scientiae Veterinariae,** Porto Alegre, v.39, n.4, p.998, 2011.

FERREIRA, D.F. **Sistema de análise estatística para dados balanceados**(SISVAR) Versão 4.2. Lavras: UFLA. 2003.

GONZÁLEZ, F.H.D., CAMPOS, R. (2003). Indicadores metabólico-nutricionais do leite. In: SIMPÓSIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA DA REGIÃO

SUL DO BRASIL, 1., 2003, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003. p.31-47.

MENDES, C. G. et al. Análises Físico-Químicas e Pesquisa de Fraude no Leite Informal Comercializado no Município de Mossoró, RN. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 11, n. 2, p. 349-356, 2010.

OLIVEIRA, C. A. F.; FONSECA, L. F. L.; GERMANO, P. M. L. Aspectos relacionados à produção, que influenciam a qualidade do leite. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.13, n.62, p.10-16. 1999.

PERES, J. R. O leite como ferramenta do monitoramento nutricional. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; DÜRR, J.W.; FONTANELI, R.S. **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras.** Porto Alegre: UFRGS,2001. p. 30-45

QUIST, M.A. et al. Milking-to-milking variability for milk yield, fat and protein percentage, and somatic cell count. **Journal of Dairy Science,** Champaign**, v.**91, n.9,p.3412-3423, 2008.

REIS, G. L.et al. Procedimentos de coleta de leite cru individual e sua relação com a composição físico-química e a contagem de células somáticas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.4, p.1134-1138, 2007.

RUTLEDGE, J. J.; ROBISON, O. W.; AHLSCHWEDE, W.T. Milk yield and its influence on 205-day weight of beef calves. **Journal of Animal Science,** Champaign**,** v.33, n.3, p.563- 567, 1971.

WATTIAUX, M. A. Milk secretion in the udder of a dairy cow. In: BABCOCK INSTITUTE FOR INTERNATIONAL DAIRY RESEARCH. **Dairy Essentials** Madison: The Babcock Institute, 2005. cap. 20, p.77-80.

WEISS, D. et al. Variable milking interval and milk composition. **Milchwissenschaft**, Braunschweig, v.57, n.5, p. 246-249, 2002.

ZANELA, M.B. Qualidade do leite em sistemas de produção na região Sul do Rio Grande do Sul. **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira,** Brasília, v.41, n.1, p.153-159, 2006.