**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Características quantitativas e qualitativas da proteína do leite
produzido na região Sudeste**

Luiz Carlos Roma Júnior

**Tese apresentada para obtenção do título de Doutor
em Agronomia. Área de concentração: Ciência
Animal e Pastagens**

**Piracicaba
2008**

**Luiz Carlos Roma Júnior
Engenheiro Agrônomo**

**Características quantitativas e qualitativas da proteína do leite produzido na
região Sudeste**

**Orientador:
Prof. Dr. PAULO FERNANDO MACHADO**

**Tese apresentada para obtenção do título de
Doutor em Agronomia. Área de concentração:
Ciência Animal e Pastagens**

**Piracicaba
2008**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO – ESALQ/USP

Roma Júnior, Luiz Carlos

Características quantitativas e qualitativas da proteína do leite produzido na região Sudeste / Luiz Carlos Roma Júnior - - Piracicaba, 2008.
148 p. il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2008.
Bibliografia.

1. Adulteração de alimentos 2. Leite – qualidade 3. Proteínas 4. Qualidade dos alimentos 5. Sazonalidade I. Título

CDD 637.1

Aos meus pais, Luiz Carlos e Maria Ângela,

pelos momentos inesquecíveis de apoio,
paciência, compreensão nesta minha caminhada
pessoal e profissional.

À minha irmã Julie,

presença constante e muito importante na
minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradecer é o momento mais sublime que existe na vida do ser humano. Assim, aqui vai meu agradecimento à todos que colaboraram com este trabalho.

À Deus, pois sem ele não teria colhido nenhum fruto nesta minha caminhada pessoal e profissional.

Ao meu orientador Prof Dr. Paulo Fernando Machado, pelo exemplo de profissional e confiança em minha trajetória;

À Pesquisadora Dra. Maria da Graça Pinheiro, mais que colega de trabalho, pelo apoio constante ao meu lado em todos os momentos;

Aos professores Cláudio Maluf Haddad e Flávio Augusto Portela dos Santos, pela amizade, confiança e por acreditarem na minha capacidade de trabalho, durante os estágios de docência;

Ao setor de Pesquisa & Desenvolvimento da Clínica (César, José, Teodoro, Viviane, Augusto, Ana Beatriz, Daiane, Cíntia), pela colaboração e apoio incondicional ao desenvolvimento do meu experimento. Em especial para a Carol, Talita, Carlos (Zaguero) e Paula (Dori), não só pela ajuda profissional mas também pelo grande laço de amizade tão importante em muitos momentos,

Ao Laboratório da Clínica do Leite pelo ótimo relacionamento e ajuda constante. Em especial para Cinara, Cristiane, Fabiana, Vitor Hugo, Ana Maria e Laerte.

Aos meus amigos da pós-graduação, principalmente Mário (companheiro de “altas horas”), Vanessa, Liana (grupinho de bioquímica e estatística). Agradeço também

ao Clube do Bocão de João Pessoa (Lílian, Millor e Flávia) pelos momentos de risadas constantes.

Aos meus amigos de todas as horas de Piracicaba (Adriana, Felipe “gaúcho”, mais do que companheiros), de muito tempo (Adriano Uoli, Anna Cecília, Alessandra, Glauco, Maurício, Eduardo, Fernando Japinha, Rodrigo Armário, Luciane) e ao Alexandre (amigo, dentista e agora “irmão”), pelo companheirismo e compreensão;

Às secretárias do departamento de Zootecnia, Creide e Vera, e também para a secretária da pós graduação Giovana, por me agüentarem por tanto tempo e ainda com paciência;

À Jeanne, Carlos, Elimar e Lorian, em nome da Danone Ltda, pela ajuda na coleta e desenvolvimento do trabalho;

Aos meus novos colegas de trabalho da APTA Ribeirão Preto, porém, já grandes conhecidos, Cláudia Paz, Eduardo Suguino, Márcia Saladini;

Aos meus amigos José, Lea e Ana Heloísa, pelas horas de apoio e descontração, junto ou não com os cavalos;

À FAPESP pelo auxílio a pesquisa concedido;

Ao CNPq pela concessão da bolsa de pós-graduação.

E a todos que tenham contribuído direta e indiretamente com este trabalho.

“A vida é generosa e, a cada sala que se vive,
descobre-se tantas outras portas.
E a vida enriquece quem se arrisca a abrir novas portas.”

Içami Tiba

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	11
LISTA DE TABELAS	15
RESUMO.....	17
ABSTRACT	19
1 INTRODUÇÃO	21
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	25
2.1 Setor lácteo.....	25
2.2 Qualidade do leite	25
2.3 Pagamento por qualidade	26
2.4 Proteína do leite	28
2.4.1 Quantidade de proteína	30
2.4.2 Adulteração do teor de proteína.....	32
2.4.3 Qualidade da proteína.....	34
Referências	40
3 VARIAÇÃO DO TEOR DE PROTEÍNA E OUTROS COMPONENTES DO LEITE E SUA RELAÇÃO COM PROGRAMA DE PAGAMENTO POR QUALIDADE	45
Resumo	45
Abstract	45
3.1 Introdução	46
3.2 Material e Métodos	47
3.3 Resultados e Discussão.....	49
3.4 Conclusões	55
Referências	56
4 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE TÉRMICA DA PROTEÍNA DO LEITE PRODUZIDO NA REGIÃO SUDESTE.....	61
Resumo	61
Abstract	61
4.1 Introdução	62
4.2 Material e Métodos	64
4.3 Resultados e Discussão.....	73

4.4 Conclusões.....	108
Referências.....	108
5 MÉTODOS PARA IDENTIFICAÇÃO DE FRAUDES UTILIZADAS PARA AUMENTAR O TEOR DE PROTEÍNA DO LEITE	115
Resumo	115
Abstract.....	115
5.1 Introdução	116
5.2 Material e Métodos	118
5.3 Resultados e Discussão	122
5.4 Conclusões.....	144
Referências.....	145

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática do procedimento de classificação das amostras (Estável, Instável, Proteína Instável) para o experimento	65
Figura 2 - Escala utilizada para determinação da estabilidade do leite através da prova do álcool (1 – ausência de precipitação; 2 – precipitação leve; 3 – precipitação média; 4 – precipitação intensa; 5 – precipitação muito intensa)	66
Figura 3 - Equipamento utilizado para análise da composição do leite - Clínica do Leite/ESALQ/USP	67
Figura 4 - Equipamento utilizado na contagem de células somáticas das amostras do experimento - Clínica do Leite/ESALQ/USP	68
Figura 5 - Vista dos animais momento antes da ordenha de uma das propriedades participantes do experimento	71
Figura 6 - Realização do controle leiteiro para o experimento	71
Figura 7 - Distribuição das propriedades participantes do projeto na Região Sudeste ..	74
Figura 8 - Distribuição geográfica das propriedades participantes relacionadas com o problema de Proteína Instável	78
Figura 9 - Distribuição das propriedades em função do número de amostras classificadas com Proteína Instável.	81
Figura 10 - Distribuição das propriedades em função da ocorrência consecutiva de Proteína Instável	82
Figura 11 - Distribuição das propriedades participantes da Fase 3 do projeto	83
Figura 12 - Distribuição das propriedades classificadas de acordo com a ocorrência de Proteína Instável em função do grupo genético	85
Figura 13 - Distribuição das propriedades classificadas de acordo com a ocorrência de Proteína Instável em função do tipo de sistema de produção	86
Figura 14 - Distribuição das propriedades classificadas de acordo com a ocorrência de Proteína Instável em função da pastagem encontrada	87
Figura 15 - Distribuição das propriedades classificadas de acordo com a ocorrência de Proteína Instável em função do tipo de volumoso oferecido aos animais	88

Figura 16 - Distribuição das propriedades classificadas de acordo com a ocorrência de Proteína Instável em função gramínea oferecida picada aos animais	89
Figura 17 - Distribuição das propriedades classificadas de acordo com a ocorrência de Proteína Instável em função do tipo de silagem oferecida aos animais	89
Figura 18 - Distribuição das propriedades classificadas de acordo com a ocorrência de Proteína Instável em função da origem do concentrado oferecido aos animais	90
Figura 19 - Ingredientes utilizados no concentrado oferecido aos animais nas propriedades classificadas de acordo com a ocorrência de Proteína Instável	91
Figura 20 - Distribuição das propriedades classificadas de acordo com a ocorrência de Proteína Instável em função da origem do concentrado oferecido aos animais	91
Figura 21 - Distribuição das propriedades classificadas de acordo com a ocorrência de Proteína Instável em função do sistema de ordenha utilizado.....	92
Figura 22 – Distribuição das propriedades em função da porcentagem de animais relacionados com Proteína Instável no leite produzido.....	94
Figura 23 – Distribuição das propriedades estudadas em função da porcentagem de leite relacionado com Proteína Instável no tanque de expansão.....	95
Figura 24 - Curva de distribuição dos animais em função do estágio de lactação para os grupos avaliados.....	98
Figura 25 - Curva de distribuição dos animais em função do escore de condição corporal para os grupos avaliados.....	99
Figura 26 - Valores médios do teor de gordura (%) de acordo com as classes de estágio de lactação para os grupos avaliados	100
Figura 27 - Relação entre teor de gordura, classes de estágio de lactação e escore de condição corporal dos grupos avaliados.....	102
Figura 28 - Distribuição dos animais nas classes de relação gordura:proteína para os grupos avaliados.....	102
Figura 29 - Distribuição dos animais nas classes de nitrogênio uréico no leite para os grupos avaliados.....	103
Figura 30 - Distribuição das variáveis estudadas de acordo com os componentes principais identificados.....	106

Figura 31 - Produtos utilizados no processo de fraude do leite (A- Soro de leite; B - Urina Bovina); C – Uréia Pecuária)	118
Figura 32 - Equipamentos automáticos para análise de leite - Clínica do Leite - ESALQ/USP	120
Figura 33 - Potenciômetro digital utilizado para aferição do pH e acidez titulável das amostras do experimento	121
Figura 34 - Fluxograma do preparo dos tratamentos e das análises realizadas no experimento	122
Figura 35 - Distribuição dos resultados de proteína do leite para as diferentes doses de soro de leite nos diferentes tempos de armazenamento	126
Figura 36 - Distribuição dos resultados de lactose para as diferentes doses de soro de leite nos diferentes tempos de armazenamento	127
Figura 37 - Distribuição da contagem de células somáticas para as diferentes doses de soro de leite nos diferentes tempos de armazenamento	128
Figura 38 - Distribuição dos resultados de pH das amostras de leite para as diferentes doses de soro de leite nos diferentes tempos de armazenamento	128
Figura 39 - Distribuição dos resultados de proteína do leite para as diferentes doses de urina bovina nos diferentes tempos de armazenamento	132
Figura 40 - Distribuição dos resultados de gordura do leite para as diferentes doses de urina bovina nos diferentes tempos de armazenamento	133
Figura 41 - Distribuição dos resultados de extrato seco desengordurado para as diferentes doses de urina bovina nos diferentes tempos de armazenamento	134
Figura 42 - Distribuição dos resultados de lactose para as diferentes doses de urina bovina nos diferentes tempos de armazenamento	134
Figura 43 - Distribuição dos resultados de pH do leite para as diferentes doses de urina bovina nos diferentes tempos de armazenamento	135
Figura 44 - Distribuição da contagem bacteriana total para as diferentes doses de uréia pecuária nos diferentes tempos de armazenamento	136
Figura 45 - Distribuição da contagem de células somáticas para as diferentes doses de uréia pecuária nos diferentes tempos de armazenamento	137

Figura 46 - Distribuição da proteína do leite para as diferentes doses de uréia pecuária nos diferentes tempos de armazenamento.....	138
Figura 47 - Distribuição da gordura do leite para as diferentes doses de uréia pecuária nos diferentes tempos de armazenamento.....	139
Figura 48 - Distribuição do teor de extrato seco desengordurado para as diferentes doses de uréia pecuária nos diferentes tempos de armazenamento.....	140
Figura 49 - Distribuição do teor de lactose as diferentes doses de uréia pecuária nos diferentes tempos de armazenamento	141
Figura 50 - Distribuição do teor de nitrogênio uréico no leite para as diferentes doses de uréia pecuária nos diferentes tempos de armazenamento	142
Figura 51 - Distribuição dos resultados de pH do leite para as diferentes doses de uréia pecuária nos diferentes tempos de armazenamento	143
Figura 52 - Distribuição dos resultados de acidez titulável do leite para as diferentes doses de uréia pecuária nos diferentes tempos de armazenamento.....	144

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Média do teor de proteína para diferenças raças	31
Tabela 2 - Classificação das amostras em função do resultado das análises realizadas	40
Tabela 3 - Tabelas de valores de bonificação/penalização em função dos parâmetros de qualidade do leite, como gordura, proteína, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total (BANDEIRA, 2004)	49
Tabela 4 - Valores mensais médias para gordura, proteína, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total das amostras analisadas	50
Tabela 5 - Valores médios para gordura, proteína, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total das amostras analisadas por época do ano.....	51
Tabela 6 - Valores médios dos aspectos climáticos estudados para o período experimental.....	52
Tabela 7 - Porcentagem média de Bonificação ou Penalização pela qualidade de leite e os respectivos valores econômicos apresentados durante os meses do período experimental.....	53
Tabela 8 - Porcentagem média de Bonificação ou Penalização pela qualidade de leite apresentada durante as épocas do ano avaliadas.....	54
Tabela 9 - Produção média diária e número de propriedades participantes do experimento por Estado	73
Tabela 10 - Número de amostras analisadas e ocorrência de Proteína Instável relacionadas com volume e valor monetário ao longo de um ano	75
Tabela 11 - Variação do número de amostras de leite classificadas como Proteína Instável ao longo dos meses.....	76
Tabela 12 - Distribuição dos casos de Proteína Instável por grupo de produção de leite	77
Tabela 13 - Comparação da composição do leite normal em relação ao leite com Proteína Instável	79
Tabela 14 - Coeficiente de correlação de Pearson (r) entre as semanas avaliadas para a ocorrência do problema de Proteína Instável.....	82

Tabela 15 - Coeficiente de Correlação de Pearson e Nível de significância para cada característica das propriedades avaliadas em relação a ocorrência de Proteína Instável	84
Tabela 16 - Quantificação de casos e volume de leite identificado com Proteína Instável nas propriedades participantes do projeto	93
Tabela 17 - Comparação das porcentagens de número de amostras e volume de leite identificados com Proteína Instável para os grupos estudados	94
Tabela 18 - Comparação da composição do leite em função da classificação das amostras de tanque de expansão das 12 propriedades estudadas	95
Tabela 19 - Comparação da composição do leite em função da classificação das amostras individuais dos animais estudados.....	96
Tabela 20 - Valores da Odds Ratio, Intervalo de Confiança de 95% e probabilidade de ocorrência estimada pelo método de regressão logística multivariada segunda as variáveis categorizadas	97
Tabela 21 - Matriz de correlação da análise de componentes principais para o estudo da ocorrência de Proteína Instável	104
Tabela 22 - Descrição dos autovalores para os componentes principais utilizados na análise da ocorrência de Proteína Instável.....	105
Tabela 23 - Descrição dos componentes principais utilizados para a análise da ocorrência de Proteína Instável	105
Tabela 24 - Descrição dos tratamentos do experimento	119
Tabela 25 - Médias e desvios-padrão das variáveis para os dias de análise das amostras adicionadas com soro de leite.....	123
Tabela 26 - Médias e desvios-padrão das variáveis para as diferentes doses de soro de leite adicionadas às amostras	124
Tabela 27 - Médias e desvios-padrão das variáveis para os dias de análise das amostras preparadas com adição de urina bovina	129
Tabela 28 - Médias e desvios-padrão das variáveis para as diferentes doses de urina bovina adicionadas às amostras.....	131

RESUMO

Características quantitativas e qualitativas da proteína do leite produzido na Região Sudeste

A maior valorização da proteína dentre todos os constituintes do leite foi o foco do presente estudo. Foi abordado a variação e fraude no teor de proteína e também o aspecto de qualidade da proteína produzida em propriedades leiteiras. Todos os experimentos foram realizados durante o período de outubro de 2005 a julho de 2007, em propriedades leiteiras da região sudeste, bem como, ensaios laboratoriais para estudo de fraudes em Piracicaba, SP. A variação do teor proteína e outros componentes do leite, foi acompanhada pela avaliação das condições climáticas encontrando influência significativa sobre a qualidade do leite. Com isso pôde ser observado que a época de outono destacou-se como mais vantajosa para produção de leite, atingindo bonificação de até 8,5% dentro de um programa de pagamento por qualidade. Sendo que, a contagem de células somáticas foi o item que mais colaborou com a penalização dos produtores. Assim, o efeito da contagem de células somáticas e da época do ano, deveriam ser contemplados dentro das tabelas de pagamento por qualidade. O segundo aspecto estudado foi a qualidade da proteína, mais especificamente Proteína Instável. A Proteína Instável seria o leite com coagulação na prova do álcool, sem relação alguma com acidez elevada, mastite ou alta contagem bacteriana. Para este estudo, foram acompanhadas propriedades leiteiras para a quantificação do problema de proteína instável e a identificação dos fatores relacionados com sua ocorrência. Como resultado, foi identificada uma ocorrência de 7% do volume total de leite produzido ao longo de um ano, com concentração maior dos casos no período de início de outono e final de inverno. Como fatores ligados a ocorrência, identificou-se o estágio de lactação avançado e diminuição do escore de condição corporal dos animais. Esta relação dos fatores está ligada à queda significativa da lactose no leite explicado pelo baixo teor energético da dieta, ou baixo consumo de matéria seca. Como último aspecto estudado, a influência da fraude no teor de proteína sobre a qualidade do leite e a detecção através de equipamentos automatizados. Foram utilizados como agentes de fraude: soro de leite, urina bovina e uréia pecuária. Todos os tipos de fraude alteraram significativamente a qualidade do leite. Estas alterações podem ser detectadas através dos equipamentos automatizados para análise do leite. Com isso, a detecção da fraude por estes equipamentos é possível através de análise conjunta de alguns componentes do leite. A abrangência do presente estudo nos três aspectos expostos, contribui com a importância da busca por qualidade da matéria-prima dentro dos programas de pagamento, principalmente para o componente proteína.

Palavras-chave: Qualidade do leite; Sazonalidade; Estabilidade térmica; Adulteração

ABSTRACT

Quantitative and qualitative characteristics of milk protein produced in Southeast region

A higher valorization of the protein amongst all the milk components is the focus of the present study. The variation and the adulteration in the protein content have been studied as much as the aspect of quality of the protein produced in milk facilities. All the experiments have been carried through during the period between October 2005 and July 2007, at dairy properties in the Brazilian Southeastern region, and the laboratorial assays for study of adulterations have been performed in Piracicaba, SP. The variation of the content protein and other components of milk was followed by the evaluation of the climatic conditions and it has been considered as of a significant influence in the milk quality. Thus, it could be observed that the autumn season has been considered the most advantageous one for milk production reaching an additional benefit of up to 8,5% of a program for payment related to quality. The somatic cells count has been the item that has influenced the most with the penalization of the producers. Thus, the effect of the somatic cells count and the season should be contemplated when analyzing the tables of payment related to quality. The second studied aspect there is the protein quality, more specifically the Unstable Protein. The Unstable Protein should be the milk with coagulation in the test of the alcohol, without any relations concerning elevated acidity, mastitis or high bacterial count. For this study, milk farms have been observed for the quantification of the Unstable Protein problem and the identification of the factors related to its occurrence. As a result, an occurrence of 7% of the total volume of the produced milk throughout one year has been identified, with higher concentration of the cases in the months of the beginning of autumn and of the end of winter. As related factors to the occurrence, it has been identified the advanced period of lactation and reduction of the score of the corporal condition of the animals. This relation of the factors is linked to the lactose decreasing in the milk which is explained by the low energy content into the nourishment or low consumption of dry substance. As the last studied aspect was the influence of the adulteration in the protein content on the quality of milk and its detection through computerized equipment. As adulteration agents the following items have been considered: whey milk, bovine urine and urea. All kinds of adulteration have significantly modified the quality of milk. These alterations can be detected through the computerized equipment for milk analysis. Thus, the detection of the adulteration through this equipment is possible through the joint analysis of some of the milk components. The comprehension of the present study in the three observed aspects contributes to the research importance for quality of the raw material in the payment programs, mainly for the component protein.

Keywords: Milk quality; Seasonability; Thermal stability; Adulteration

1 INTRODUÇÃO

Desde a domesticação do gado, há cerca de 6000 anos, sânscritos atestam o fato de que o leite já era considerado um importante constituinte alimentar (ROSENTHAL, 1991). Este hábito de consumir leite, prevalece até os dias de hoje e adquiriu o perfil da civilização moderna que o beneficiou e criou um grande número de produtos lácteos.

Em decorrência deste aumento da diversidade de produtos lácteos encontrados no mercado, a competitividade é uma preocupação constante na indústria atualmente. Isto pode ser explicado pelo fato dos produtos serem concebidos com preço final já pré-estabelecido pelo mercado, sortido de inúmeros produtos e inúmeras fontes. Este efeito globalizado não poderia ser diferente em relação à indústria de laticínios através da adaptação desde a coleta do leite até diante da remuneração do produtor por sua qualificação. Esta preocupação não é diferente no Brasil (OLIVEIRA; REIS, 2004).

Como a remuneração está baseada na quantidade do componente no leite, o aspecto de quantidade passa a ser um item importante para o produtor. Dentre todos os componentes presentes nas tabelas para pagamento por qualidade, o teor de proteína do leite é um dos mais importantes pela sua relação direta com rendimento industrial (VAN BOEKEL, 1993 apud VIOTTO; CUNHA, 2006). Além disso, a legislação nacional em vigor exige uma padronização com valor mínimo de proteína para este ser comercializado de 2,9% (BRASIL, 2002).

Juntamente com a quantidade, a qualidade dos componentes do leite é fundamental para a indústria de laticínios, em virtude da exigência de tratamentos térmicos relacionados com aspectos de saúde pública (patógenos potenciais) e de conservação (microorganismos deteriorantes e enzimas), podendo ocasionar, entretanto, alterações químicas que afetam o produto final. Portanto, dentre as características de qualidade da matéria prima, a indústria deve selecionar a estabilidade térmica quando seu objetivo é a elaboração de produtos que sofram tratamentos térmicos intensos e/ou prolongados. Diante disso, a relação da qualidade da proteína em termos de estabilidade térmica torna-se de fundamental importância para a indústria atingir avanços no rendimento industrial. Esta importância não pode ser somente

relacionada com a exigência da indústria, mas também pela exigência da Normativa 51 (BRASIL, 2002) quanto à exigência da realização da prova de estabilidade ao álcool (72%).

Dentre os problemas de estabilidade térmica, muitos estão relacionados com leite que apresenta elevada acidez devido à contagem bacteriana total. Mas também existe problema relacionado com a proteína, denominado Proteína Instável, caracterizado por leite com pH e acidez titulável dentro dos padrões considerados normais, baixa contagem bacteriana e contagem de células somáticas, contudo apresenta coagulação visível na prova do álcool. A ocorrência deste problema ainda é desconhecida em decorrência da complexidade dos fatores envolvidos na estabilidade térmica do leite, criando o desafio de gerar conhecimento em busca de medidas de controle e/ou preventivas.

No entanto, a busca por um leite de melhor qualidade e com alto teor de proteína ressurgem alguns problemas já antigos na cadeia láctea, como o caso de fraudes. Atualmente, com os programas de pagamento por qualidade, estas fraudes não estão relacionadas somente com aspectos de volume, através da adição de água (BEHMER, 1999), mas também com a alteração do teor dos componentes do leite, em específico o teor de proteína. Para a prevenção da ocorrência deste problema, existe a necessidade de métodos rápidos e precisos para a detecção, com isso surge a oportunidade de avaliar o uso de equipamentos automatizados, utilizados para avaliação da composição do leite para esta detecção.

Diante dos aspectos abordados relacionados com proteína do leite, o objetivo geral do presente estudo foi o diagnóstico da proteína no leite produzido e enviado às indústrias de laticínio do Estado de Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo. Os objetivos específicos foram:

- a) Avaliar o efeito da época do ano sobre a proteína e outros componentes do leite dentro de um programa de pagamento por qualidade;
- b) Quantificar a ocorrência do problema denominado Proteína Instável no leite produzido na região Sudeste ao longo de um ano;
- c) Verificar a relação entre a ocorrência de Proteína Instável com características da qualidade do leite e das propriedades leiteiras;

- d) Análise do fenômeno através de características zootécnicas das propriedades, identificando as causas do problema de Proteína Instável;
- e) Determinar métodos para detecção de fraude no teor de proteína do leite.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Setor lácteo

O leite é considerado um alimento perfeito da natureza e apresenta composição rica em proteínas, vitaminas, gordura, carboidratos e minerais (principalmente cálcio), alimento importante à saúde do homem, sendo indicado para todas as idades; as restrições ao seu uso são limitadas a casos excepcionais (OLIVEIRA et al., 1999).

A produção de leite no Brasil tem aumentado aproximadamente 4% ao ano na média dos últimos 10 anos, registrando em 2003, o total de 21 bilhões de litros produzidos, segundo FNP (2004). Deve-se destacar que 65% da produção é destinada à elaboração de produtos industrializados (FONSECA, 1997).

Na atualidade, a questão da "qualidade e segurança" dos produtos alimentícios, tem recebido maior atenção por parte das autoridades, indústria, profissionais do setor, produtores e consumidores de modo geral. Devido a esta questão, principalmente relacionado por parte das indústrias e produtores de alimentos foi lançado o Programa Nacional de Qualidade do Leite (PNQL), resolução 56, para melhoria na qualidade do leite produzido no Brasil (COLDEBELLA et al., 2002).

Diante disso, a legislação brasileira, que trata especificamente do leite e seus derivados, passou por recente processo de modernização para acompanhar as tendências mundiais e trazer melhorias para o setor nacional como um todo, estabelecendo novos padrões legais da qualidade mínima do leite comercializado no Brasil (BRANDÃO, 2000).

Diante do exposto, Brandão (2000) discursa sobre a necessidade de busca de informações e meios suficientes para que todos os envolvidos na cadeia de produção estejam a par das variáveis do problema e, saibam como proceder para garantir leite dentro dos padrões de qualidade necessários para manter as características do seu alto padrão nutricional.

2.2 Qualidade do leite

Por definição do RIISPOA (2004), "o leite é um produto obtido da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas leiteiras sadias, bem

alimentadas e em repouso. O leite de outros animais deve denominar-se segundo a espécie da qual procede”. A classificação química do leite pode ser estratificada em mais de 50 compostos químicos de importância variada, que desafia a indústria de laticínios.

A necessidade de implementar medidas para melhorar a qualidade do leite no país motivou a elaboração do PNQL, iniciativa do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento com apoio de órgãos de ensino e pesquisa, o qual suscitou uma série de discussões entre as entidades representativas da indústria e produtores, conduzindo a uma proposta amplamente debatida e com o apoio dos diferentes elos da cadeia produtiva láctea. A proposta mais objetiva até o momento foi à publicação da Instrução Normativa 51/2002 (BRASIL, 2002), na qual se definiram regulamentos técnicos para a produção, identidade e qualidade dos diversos tipos de leite, bem como as condições para sua refrigeração na propriedade rural e transporte a granel até a indústria. A Instrução Normativa determina que a qualidade do leite de cada propriedade rural seja acompanhada através de análises laboratoriais para que se identifiquem os problemas na origem, ao contrário do que se faz hoje, quando a qualidade da matéria-prima é inspecionada no recebimento do leite pela indústria e pouco se pode fazer para corrigir as falhas (DÜRR, 2004).

Um grande avanço dos novos regulamentos técnicos é que a fiscalização da matéria-prima vai passar a ser feita na propriedade rural e não mais na plataforma de recepção da indústria. Isso vai permitir que os problemas sejam identificados na origem e, através do programa de incentivo e penalidade, os produtores passaram a adotar as medidas corretivas necessárias (DÜRR, 2004).

2.3 Pagamento por qualidade

A determinação de um leite com qualidade pode ser definida em termos de sua integridade, ou seja, livre da adição de substâncias e/ou remoção de componentes; de sua composição química e características físicas; e de sua deterioração microbiológica e presença de patógenos (DÜRR, 2004). Monardes (1998) ainda destaca que a qualidade do leite também está relacionada a características organolépticas (odor, sabor, aspecto).

Com a demanda da população, que tem procurado se alimentar mais de leite fluido e derivados, e a necessidade da indústria, em reduzir suas perdas com matéria-prima de má qualidade, tem aumentado a exigência para que o leite cru tenha um elevado padrão de qualidade já na sua origem. Assim, as indústrias de grande porte, no início da década de 90, passaram a estabelecer novos requisitos para o recebimento do leite, vinculando a remuneração ao produtor justamente com a qualidade da matéria-prima, com intuito de instituir de forma progressiva o pagamento diferenciado do produto de acordo com sua qualidade.

Existem iniciativas governamentais visando padronizar e melhorar a qualidade do leite, como a implantação de normas nacionais de padrões de qualidade do leite, determinadas pelo Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (RIBEIRO et al., 2000) que compõem a Instrução Normativa 51 já em vigor (BRASIL, 2002).

Segundo Philpot (1998), o objetivo principal dos programas de qualidade de leite deveria ser o de assegurar que as qualidades nutricionais, sabor e aparência originais do leite tenham sido preservados e que microrganismos nocivos ou adulterantes não estejam presentes.

Em contrapartida, com a iniciativa do governo através do Programa de Melhoria da Qualidade do Leite, algumas indústrias iniciaram a implantação de programas de pagamento por qualidade, como instrumento para incentivar o produtor a buscar pela melhoria de seu produto e, indiretamente, para obter melhor rendimento industrial. Além do pagamento de bonificações pelo leite de alta qualidade, podem ser utilizadas penalizações para o leite de baixa qualidade. Esses programas têm sido ferramentas poderosas para motivar os produtores a melhorar a qualidade do leite cru. Em geral, os incentivos por qualidade variam entre as indústrias ou cooperativas, mas a contagem de células somáticas, a contagem total de bactérias, a ausência de resíduos de antibióticos e outros inibidores, e a ausência de fraude por adição de substâncias externas são os principais contemplados para aferir a qualidade do leite.

2.4 Proteína do leite

O leite é um sistema coloidal constituído por uma solução aquosa de lactose (5%), sais (0,7%) e muitos outros elementos em estado de dissolução, onde se encontra a fração nitrogenada representada principalmente pelas proteínas (3,2%) em suspensão (AMIOT, 1991). As proteínas do leite podem ser classificadas em dois grandes grupos: as caseínas e as proteínas do soro. A caseína pode ser definida como a fração da proteína do leite que sofre precipitação em pH=4,6 a 20°C; enquanto que o restante das proteínas do leite que não sofrem precipitação é chamado coletivamente de proteínas do soro (SWAISGOOD, 1993; FARRELL et al., 2004).

A caseína é sintetizada nas células epiteliais da glândula mamária, consistindo de 4 principais variantes genéticas: α s1-, α s-2, β e κ - caseína. Este grupo de proteínas compõe aproximadamente 80% do total de proteínas do leite, o que determina uma concentração média de 24-34 mg/mL (SWAISGOOD, 1993; FARRELL et al., 2004), que é o principal determinante do rendimento na fabricação de queijos (EMMONS et al., 2003). As concentrações das diversas frações de caseína do leite α s1-, α s-2, β e κ -caseína são de, aproximadamente, 12-15, 3-4, 9-11, e 3-4 mg/mL, respectivamente (SWAISGOOD, 1993; FARRELL et al., 2004).

Dentre as quatro principais proteínas do soro, duas são sintetizadas na glândula mamária (β -lactoalbumina e a α -lactalbumina), enquanto que as outras duas são de origem do sangue (albumina sérica e imunoglobulinas). Outras proteínas do soro incluem a lactoferrina, transferrina e enzimas (plasmina, lipase lipoprotéica, fosfatase alcalina). No leite integral, a β -lactoalbumina é a proteína do soro presente em maior concentração (2-4 mg/mL), seguida pela α -lactalbumina (1-1,5 mg/mL), enquanto que a albumina sérica e as imunoglobulinas apresentam, respectivamente, as seguintes concentrações: 0,1-0,4 e 0,6-1,0 mg/mL (SWAISGOOD, 1993; FARRELL et al., 2004).

O leite apresenta, além das proteínas e peptídeos, uma fração de compostos nitrogenados não-proteicos (NNP), que pode perfazer aproximadamente 5% do total de nitrogênio do leite, de acordo com Waltra e Jenness (1984). Estes compostos são principalmente de origem do sangue, incluindo principalmente substâncias como a uréia, a creatina e a creatinina. De acordo com DePeters e Cant (1992), a maior

proporção do NNP é nitrogênio no forma de uréia (48%), a qual entra livremente na glândula mamária por difusão para equilibrar sua concentração com a do plasma sanguíneo.

Dentre os componentes do leite, a proteína é o de maior foco atualmente. Esta importância pode ser explicada pela relação direta de teor de proteína e rendimento industrial, principalmente em aplicações que visem a concentrar este componente, como na fabricação de queijos. Sendo que, o rendimento industrial está vinculado ao ponto de vista econômico das empresas pela melhor qualidade do produto e a geração de maior variedade de produtos lácteos. Com isso, a indústria passou a maior valorização do teor de proteína, influenciando diretamente nos programas de pagamento por qualidade de alguns países, como Holanda, França, Austrália, Nova Zelândia e Canadá. Nestes países o valor de proteína é igual ou até o dobro do valor dos demais componentes (SANTOS; FONSECA, 2007). Nos Estados Unidos, a média dos valores do ano de 2003 apontou US\$ 3,22/kg de proteína e US\$ 2,80/kg de gordura (USDA, 2004), indicando que o kg de proteína vale 15% a mais do que o kg de gordura.

O benefício para as indústrias com relação a mudança na composição do leite, principalmente no teor de proteína, é bem significativo. De acordo com Santos e Fonseca (2007) o aumento em 0,1% de proteína pode significar em aumento de até 5 toneladas de leite em pó ou 1 tonelada de queijo.

Diante desta busca por proteína pelas indústrias, a cadeia agroindustrial do leite mudou radicalmente em todos os seus componentes. O produtor busca produção de leite com maior teor de proteína, até o consumidor final na busca por produtos com menor teor de gordura, porém com alto valor biológico, sendo que o leite é fonte de proteína (SANTOS; FONSECA, 2007).

Esta mudança pode ser vista benéficamente através da melhoria do leite produzido, do produtor melhor remunerado pelo seu produto de melhor qualidade, pelos produtos finais aos consumidores de melhor qualidade. Porém existe também a preocupação com um problema já antigo nas propriedades leiteiras: a fraude. Fraude esta relacionada diretamente com o teor de componentes, e não mais relacionada apenas com volume. Com este cenário pela busca de proteína no leite, esta não deve estar fundamentada somente no aumento do teor, mas também em termos de

qualidade e isentos de fraudes, para evitar prejuízos para a cadeia agroindustrial (VIOTTO; CUNHA, 2006).

2.4.1 Quantidade de proteína

O teor de proteína no leite é importante devido aos programas de pagamento por qualidade. Mas atualmente, além da preocupação com tais programas, existe também a iniciativa do governo em atingir padrões mínimos de qualidade do leite para possibilitar aumento nas exportações e questão de saúde pública. Esta iniciativa está relacionada com a Instrução Normativa 51/2002, que propõe padrões para produção de leite e dentre estes, existe o valor de proteína mínimo (2,9%), para o leite ser passível de comercialização (BRASIL, 2002).

Com isso, os produtores preocupam-se não só com a economia diante dos programas de pagamento por qualidade, mas também com a questão legal, perante a legislação em vigor. Assim, a busca pelo aumento do teor de proteína tem sido crescente e incentivada, visto pelo aumento do número de pesquisas na área.

As mudanças no teor de proteína podem ser conseguidas numa magnitude bem inferior às alterações possíveis no teor de gordura, por uma série de fatores (SUTTON, 1989). Estes fatores podem ser citados desde ambientais até algumas características de manejo dos animais.

Genética e Ambiente

A influência da genética sobre o teor de proteína no leite é bem demonstrada por resultados de pesquisas comparando diferentes raças. Na Tabela 1 pode ser observada a variação do teor de proteína dentro da faixa de valores médios de 3,16 a 3,73%, conforme apresentado por Looper et al. (2005). Mas mesmo com este apelo forte para a genética, cerca de 55% da variabilidade do teor decorre da genética, o restante está relacionado como ambiente (SANTOS; FONSECA, 2007). Assim sendo, existe grande influência do ambiente apresentando variação de seu teor ao longo do ano (TEIXEIRA et al., 2003; LOOPER et al., 2005). Esta variação ao longo do ano apresenta os teores mais baixos nos meses de verão, comprovando o efeito de estresse térmico sobre o teor de proteína do leite. Porém, além do efeito direto nos animais através do estresse

térmico principalmente, ainda existe o efeito indireto do ambiente sobre as pastagens, afetando o teor de proteína no leite.

Tabela 1 - Média do teor de proteína para diferenças raças

Raça	Proteína Bruta (%)
Ayrshire	3,31
Guernsey	3,47
Holandês	3,16
Jersey	3,73
Pardo Suíço	3,52

Fonte: Looper et al. (2005)

Nível de produção, estágio de lactação e idade da vaca

O teor de proteína no leite (%) é negativamente relacionado com produção de leite. Entretanto a produção de proteína (kg/litro) aumenta conforme aumenta a produção de leite (LOOPER et al., 2005). Assim como existe a relação com o nível de produção, também existe a influência do estágio de lactação sobre o teor de proteína. Um exemplo seria uma vaca Holandesa, na primeira semana de lactação com nível de proteína cerca de 4%, sofre declínio para cerca de 3% pela sexta semana e volta a aumentar no final da lactação (SANTOS; FONSECA, 2007). Bem como a idade da vaca também sofre influência sobre o teor de proteína, apresentando vacas multíparas com menos teor que as primíparas, no entanto produzem maior quantidade de proteína, em decorrência do maior volume de produção. De acordo com o DHIA (Dairy Herd Improvement Association) baseado em seu banco de dados existe a diminuição de 0,02 a 0,05% por lactação (LOOPER et al., 2005).

Sanidade

Muitas são as doenças que afetam os componentes do leite, mas a de maior importância sobre o teor de proteína é a mastite. A ocorrência de mastite acarreta na redução do teor de proteína, interferindo diretamente sobre o rendimento industrial (VIOTTO; CUNHA, 2006). Leite de vacas com elevada contagem de células somáticas (maior que 500.000 céls/mL) apresentam maior tempo de coagulação e formação de

massa fraca em comparação com leite de vacas com baixa contagem (LOOPER et al., 2005).

Nutrição

A nutrição pode afetar a quantidade e/ou porcentagem de proteína no leite. Este potencial de alteração é bem mais restrito que a influência da dieta sobre o teor de gordura. A faixa de alteração do teor de proteína pela dieta pode ser citada entre 0,1 a 0,2 unidades percentuais. Porém, uma das vantagens da tentativa de aumento do teor de proteína no leite através da nutrição, é que este aumento geralmente é acompanhado pelo aumento do volume de produção (SANTOS; FONSECA, 2007). O que de ser levado em consideração para o aumento do teor de proteína é o aumento do consumo de matéria seca e a otimização da produção de proteína microbiana.

Outros pontos relacionados com nutrição são: uso de gordura na dieta e relação concentrado-volumoso. A adição de gordura na dieta geralmente reduz de 0,1 a 0,2 pontos percentuais para cada quilo de gordura. Já a relação concentrado-volumoso está relacionada com a fermentação ruminal. Como o aumento da proporção de concentrado nas dietas, provocando aumento da produção de leite, porém em dietas com excesso de concentrado, pode existir redução no teor de proteína devido à diminuição do crescimento bacteriano em decorrência de acidose ruminal (SANTOS; FONSECA, 2007).

2.4.2 Adulteração do teor de proteína

Medeiros et al. (2001) relatam sobre a tendência atual de aumento no consumo de proteína do leite em detrimento ao consumo de gordura do leite. Esta tendência tem influenciado os sistemas de pagamento do leite aos produtores de alguns países como Holanda, França, Austrália, Nova Zelândia e Canadá (IBARRA, 2004), onde o teor de proteína e gordura contabilizam, cerca de 55 e 45% do preço total recebido pelos produtores, respectivamente (WILLIAMS; JACHINK, 1991).

Com isso, a autenticidade dos alimentos tornou-se mais um objetivo a ser alcançado, assim como a busca pela qualidade. Por isso, é cada vez mais importante detectar a introdução no mercado de produtos fraudulentamente rotulados e de

qualidade inferior, quer por razões econômicas, quer por razões de saúde pública (VELOSO et al., 2002).

Por definição, fraude é a adição ou subtração parcial ou total de qualquer substância na composição original do produto. A fraude pode ser caracterizada tanto pela adição de uma matéria qualquer que não exista no produto, como pela subtração de um dos seus elementos, em condições tais que o produto perca suas características normais. As fraudes mais generalizadas são: a adição de água ao leite, desnate parcial ou adição de leite desnatado e, ainda, a adição de água e leite desnatado conjuntamente (BEHMER, 1999). Outros métodos de fraude, também podem ser considerados como a adição de urina ao leite e de estabilizantes, todos visando obter lucro ilícito.

Segundo Brandão (IDEC, 2003), a fraude com o soro de leite é o tipo mais comum. O soro é usado pelos laticínios como ingrediente na fabricação de bebidas lácteas. Seu valor protéico equivale a cerca de um quarto ao do leite e o preço, mais baixo. O autor afirma que o leite pode ficar com um sabor aguado. Para o consumidor, porém, a diferença entre o leite puro e o fraudado é imperceptível quando o grau de adição de soro não ultrapassa 20%.

Outros tipos de fraude também foram citados na literatura, Guan et al. (2005) destacaram que existe a adulteração de leite fresco com leite reconstituído ou a venda de leite reconstituído como o produto fresco. Mabrook et al. (2006) relataram que a adição de água ao leite é uma prática comum realizada por fazendeiros em algumas partes do mundo. Segundo Paradkar et al. (2001) o leite sintético (uma combinação de uréia, sal de sódio, bicarbonato de sódio, sacarose, óleo vegetal, detergente e água) imita muito bem as características físico-químicas do leite e também tem sido uma forma de adulterar produtos lácteos.

Através do levantamento de estudos a respeito de fraudes, eram encontrados amplamente casos de fraudes por volume ou prolongamento da vida útil do produto (PIRES, 2006). Recentemente, estas fraudes continuam, porém além dos fatores apresentados, outros casos surgem com grande importância, o caso das fraudes de adulteração da composição do leite.

Não existem relatos em literatura com relação a fraudes no teor de proteína do leite com uréia e urina bovina, no entanto, muitos laticínios já possuem conhecimento destas fraudes. Estes dois produtos, uréia e urina bovina, tornam-se importantes substâncias de fraude do leite, por conterem nitrogênio, resultando assim no aumento do teor de proteína detectável no leite, pelo aumento da concentração de nitrogênio. Outro ponto que merece destaque é pelo fácil acesso dos produtores a estes produtos. A urina facilmente coletada dos animais e a uréia comumente encontrada nas propriedades por ser utilizada diretamente na dieta de bovinos.

Desta forma, práticas de adulteração criam competição desleal, que podem gerar impacto negativo na economia local ou mesmo internacional (GUAN et al., 2005). Além disso, estas fraudes comprometem características organolépticas e, às vezes, o valor nutritivo dos alimentos, práticas sempre prejudiciais aos consumidores e à própria indústria, já que não se pode fabricar derivados a partir de leite fraudado (SÁ, 2004).

2.4.3 Qualidade da proteína

O leite de alta qualidade é caracterizado como um produto livre de agentes patogênicos e outros contaminantes, com reduzida contaminação microbiana, sabor agradável, adequada composição e baixa contagem de células somáticas. Santos (2004) ressaltou os principais aspectos não microbiológicos que afetam a qualidade do leite, com enfoque principal para alterações da proteína do leite e sua estabilidade.

Dentro da qualidade, existe o termo estabilidade térmica, que pode ser definido como o tempo necessário para ocorrer coagulação visível do leite, em determinado pH e temperatura. Esta estabilidade está diretamente relacionada com a capacidade de o leite resistir à coagulação pelo calor e, portanto, ao seu processamento (SILVA, 2003).

A ocorrência do leite com instabilidade da proteína, diagnosticada pela prova do álcool, é um problema encontrado em várias regiões do Brasil. Esta situação tem sido encontrada mesmo em leite que não apresenta elevada acidez e que não seja originado de vacas com mastite. A ocorrência do leite com instabilidade da proteína resulta em matéria-prima com características inadequadas para produção de derivados lácteos, representando prejuízos para toda cadeia láctea (SANTOS, 2005).

Em algumas situações, cooperativas e laticínios freqüentemente encontram leite que não passa na prova do álcool a 72% (resultados positivos), ainda que o leite apresente baixa CBT (contagem bactéria total), baixa CCS (contagem de células somáticas), pH normal e sólidos totais dentro da faixa de normalidade. A grande preocupação das indústrias, neste caso, é que o leite que não passa nesta prova (coagulação positiva na prova) poderia ter problemas de estabilidade durante o processamento térmico para a produção de derivados lácteos (SANTOS, 2005).

A precipitação do leite na prova do álcool resulta muitas vezes, na rejeição por parte da indústria com prejuízo para os produtores, pois a prova do álcool é muito empregada nas indústrias de laticínios como um teste para aceitação ou rejeição do leite no momento de recepção na plataforma da indústria ou mesmo na captação do leite na fazenda (SANTOS, 2004).

Em estudos realizados por Fisher et al. (2004a) foi encontrada a ocorrência média de proteína instável, determinada pela prova conjunta de acidez titulável, pH e prova do álcool, na região sul do estado do Rio Grande do Sul com valor de 58%, em experimento com 9.282 amostras provenientes de tanques resfriadores de leite.

Como as causas da instabilidade protéica do leite na grande maioria das situações a campo são desconhecidas, torna-se difícil a correção através de medidas de manejo. Para o entendimento da ocorrência desta proteína instável, a literatura mostra diversos fatores que podem estar relacionados com a estabilidade do leite, a saber: tempo, temperatura, pH, equilíbrio salino, sanidade, características dos animais, nutrição e concentração de uréia (SILVA, 2003). Esta estabilidade térmica, para o caso do leite, está relacionada com a proteína, que se torna instável termicamente, impossibilitando este de sofrer qualquer tipo de processamento que envolva aquecimento.

Tempo, Temperatura e pH

A estabilidade térmica do leite é o tempo necessário para originar coagulação visível a uma dada temperatura e um dado pH, correspondendo à capacidade do leite em resistir à coagulação pelo calor, visando sua aptidão para o processamento. A

estabilidade térmica exerce grande influência sobre qual destino deve ser dado ao leite em função dos diferentes tratamentos térmicos a serem utilizados (SILVA, 2003).

O abaixamento do pH do leite ocorre por acidificação, concentração ou adição de sais solúveis, ocasionando a solubilização, particularmente, do fosfato de cálcio e a diminuição da estabilidade térmica do leite (SILVA, 2003). O autor cita que em temperatura alta, o pH será muito menor, fundamentalmente em consequência da maior dissociação da água, da precipitação do fosfato tricálcico e da produção de ácido.

A velocidade de alteração de pH depende também do pH inicial e da disponibilidade de oxigênio, necessário para a formação de ácido a partir da lactose. A velocidade da produção de ácido durante o aquecimento é o fator mais importante da coagulação pelo calor, pois o pH de coagulação é sempre baixo (SILVA, 2003).

Sanidade e Equilíbrio Salino

As características do leite podem ser alteradas pela ocorrência de doenças, síndromes e distúrbios metabólicos, resultando em um produto de baixa qualidade, que muitas vezes pode até ser impróprio para o consumo humano. Em vacas leiteiras, especialmente as de alta produção, os transtornos digestivos do rúmen e os distúrbios metabólicos ocorrem com frequência, sendo que a maioria das alterações metabólicas acontece de forma subclínica, sem o aparecimento dos sintomas a não ser um decréscimo de 10% a 30% na produção de leite (GONZÁLEZ, 2004). O autor relaciona ainda problemas na produção do leite com transtornos ruminais e metabólicos. Os resultados destes distúrbios são as alterações bioquímicas iniciais que podem ser detectadas no leite, de forma que este se configura como boa ferramenta para o diagnóstico precoce dos problemas. Os principais transtornos metabólicos nas vacas leiteiras incluem os relacionados ao manejo alimentar, tais como a acidose ruminal, laminite, desequilíbrios nutricionais e deslocamento de abomaso, além de distúrbios que envolvem o desequilíbrio metabólico em função do balanço energético negativo, como a cetose, ou balanço mineral negativo, como a hipocalcemia. (MATTOS; PEDROSO, 2005).

O teor de minerais no leite geralmente encontra-se próximo do valor de 1%. As alterações dessa fração podem ter grande influência na qualidade do leite e afetar seu

processamento industrial. Em geral, as vacas com infecção da glândula mamária apresentam alta contagem de células somáticas e conseqüentemente alterações nas concentrações de minerais do leite, o que pode afetar significativamente sua qualidade e também sua estabilidade térmica (MATTOS; PEDROSO, 2005).

Norberg et al. (2004) afirmam que a mastite causa elevação nos teores de sódio e cloro no leite, o que leva ao aumento de sua condutividade elétrica. Segundo Tallamy e Randolph (1970), citados por Santos (2001), a concentração de sódio no leite com alta CCS passa de 60mg/dL, contra 44mg/dL no leite normal. Quanto a CCS passa de 1.000.000 células/mL, a concentração de sódio pode ser duas vezes superior (105mg/dL) à do leite com CCS menor do que 100.000 células/mL (MATTOS; PEDROSO, 2005)

Outros minerais que também podem sofrer alterações no leite devido à mastite são: o cálcio e fósforo, que têm papel importante na estabilização das micelas de caseína no leite. Em animais com mastite, a concentração de ambos os minerais no leite é reduzida. A alta CCS normalmente esta associada à redução de síntese de caseína. Como a maior parte do cálcio do leite encontra-se incorporado às micelas de caseína, sua concentração normalmente decresce nessa situação. Em animais com mastite, as concentrações de cálcio e fósforo no leite são reduzidas de 130 e 38 para 124 e 32 mg/dL, respectivamente, em relação ao leite normal conforme relatado por Tallamy e Randolph (1970), apud Santos (2001).

Animais e Ambiente

No início e no final da lactação, ocorre aumento na concentração das proteínas do leite, o que implica numa maior formação de complexo β -lactoglobulina/k-caseína, sendo que este complexo está relacionado com a estabilidade térmica do leite. Outro fato interessante, seria com relação às concentrações de cálcio e fósforo que também se mostram alteradas em função do estágio de lactação que as vacas se apresentam, podendo gerar desequilíbrio salino influenciando assim a estabilidade térmica do leite (SILVA, 2003).

De acordo com Tervala et al. (1983, 1985), parece não existir diferença na estabilidade do leite em função da raça do animal. Ponce e Hernandez (2001)

relacionam a ocorrência de problemas de instabilidade térmica do leite com rebanhos leiteiros especializados, devido à sua alta demanda nutricional.

Tem sido constatada certa influência da época do ano, sendo a alteração aparentemente mais freqüente nos meses de outono, na mudança de estação de inverno para primavera e também relacionada com períodos de seca. Existe relação evidente entre a positividade da prova e o período de lactação do animal, uma vez que ela se constata mais freqüentemente no início e no fim da lactação (BARROS et al. 1999). Fischer et al. (2004b) apresentaram como resultado do estudo de leite com proteína instável a ocorrência mais freqüente nos meses de fevereiro e março.

Nutrição e Teor de Uréia

O teor de proteína no leite depende do perfil de aminoácidos absorvidos pelo animal, que é reflexo do perfil de aminoácidos da proteína metabolizável disponível no intestino delgado. Sabe-se que 50% ou mais da proteína metabolizável são compostos pela proteína microbiana, considerada a fonte de maior valor biológico disponível ao ruminante (CHANDLER, 1989). Dessa forma, a maximização da produção de proteína microbiana é ponto chave para maximizar a síntese de proteína do leite com qualidade para o processamento deste.

A variação na composição protéica do leite é pequena para exercer um efeito considerável na estabilidade térmica do leite. Porém o teor natural de uréia é o fator mais importante. Segundo Shalabi e Fox (1982) apud Silva (2003), a uréia estabiliza o leite ao calor somente na presença de um composto carbonilado, como um açúcar redutor. Porém, na ausência de uréia, estes compostos carbonilados de baixa massa molar podem aumentar a estabilidade (SILVA, 2003).

Ponce (1999) relata a relação da nutrição do animal com a composição do leite, sendo assim, passível de interferência na estabilidade térmica do leite. Ponce e Hernandez (2001) relacionam a ocorrência de proteína instável no leite com rebanhos que sofrem restrição alimentar com baixo consumo de matéria seca e alimentação com base, principalmente, em cana-de-açúcar.

Segundo Silva e Almeida (2004), os minerais contidos na ração não afetam de modo considerável a composição salina do leite. A deficiência de cálcio e fósforo na

ração interfere na produção de leite, mas não altera as suas concentrações no leite; a vaca retira esses minerais da reserva óssea para compensar a deficiência de ingestão. A suplementação exagerada de cálcio e fósforo na ração poderá não aumentar a concentração desses minerais no leite. Nutrição deficiente, com forrageiras, pode diminuir o teor de citrato no leite, que ocasiona um desequilíbrio salino, diminuindo a estabilidade térmica deste.

Determinação da Estabilidade da Proteína

A prova do álcool pode ser usada como método rápido para estimar a estabilidade das proteínas do leite, uma vez que este teste mede indiretamente a estabilidade do leite ao tratamento térmico ou pH (na presença de alizarina) (BARROS, 2001). Inicialmente, a prova do álcool foi utilizada como estimativa da presença do ácido láctico oriundo da fermentação de microrganismos mesófilos, mas, atualmente em condições de refrigeração do leite na própria fazenda, o seu uso está relacionado com a aptidão do leite ao processamento. Nesta prova o álcool atua como desidratante e simula condições de aquecimento. São colocados em tubo de ensaio, 2 mL de leite mais 2 mL de etanol 72% (v/v), de acordo com a metodologia recomendada pelo Ministério da Agricultura (BRASIL, 1981). Caso haja floculação do leite, pode-se suspeitar de leite ácido ou com instabilidade da proteína. Outros testes que poderiam ser usados com objetivos similares seriam: a prova da fervura, a prova do alizarol e a prova da acidez titulável (Dornic).

Em suma, a prova do álcool pode ser útil para estimar a estabilidade do leite à floculação durante o tratamento térmico, buscando a obtenção de produtos mais estáveis e de melhor rendimento, pois se trata de uma prova muito barata e de simples realização. Adicionalmente, os resultados da prova do álcool podem indicar a necessidade de melhoria na alimentação de rebanhos. No entanto, deve-se ressaltar que os resultados desta prova não devem ser utilizados como fator único para se estabelecer o preço do leite, uma vez que os resultados desta prova são afetados por diversos fatores, muitos dos quais o produtor não tem controle (SANTOS, 2005).

Marques et al. (2003) citaram a identificação do problema de proteína instável como sendo leite abaixo de 18º D, associado ao aparecimento de precipitação na prova

do álcool resultando em leite com instabilidade térmica. Esta identificação foi conseguida através da análise conjunta da acidez titulável e prova do álcool nas amostras estudadas.

De acordo com CENLAC (2004), a determinação da estabilidade térmica do leite e, mais especificamente, da instabilidade térmica da proteína é feita com base em uma bateria de análises, sendo elas: prova do álcool, acidez titulável, pH, densidade e contagem de células somáticas. As amostras que apresentavam contagem de células somáticas menor que 1.000.000 céls/mL e/ou densidade maior que 1,0270, eram classificadas como: positiva, duvidosa e negativa. Para as provas foram considerados resultados positivos quando a amostra apresentou coagulação na prova do álcool, quando apresentou acidez titulável abaixo de 18°D e quando o pH foi maior que 6,7. A Tabela 2 exemplifica a classificação das amostras com base nos resultados das análises.

Tabela 2 - Classificação das amostras em função do resultado das análises realizadas

Análises	CLASSIFICAÇÃO								
	POSITIVA				NEGATIVA			DUVIDOSA	
Prova do Álcool 78% (coagulação)	+	+	-	+	-	-	+	-	-
Acidez Titulável (<18°D)	+	-	+	+	-	-	-	+	-
pH (>6,7)	-	+	+	+	-	-	-	-	+

Fonte: CENLAC (2004)

Referências

- AMIOT, J. **Ciencia y tecnologia de la leche**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1991. 547 p.
- BARROS, L.; DENIS, N.; GONZÁLEZ, A.; NUÑEZ, A. Prueba del alcohol em leche y relación com cálcio iônico. **Prácticas Veterinárias**, Montevideo, v. 9, p. 315-318, 1999.
- BARROS, L. Transtornos metabólicos que afetam a qualidade do leite. In: GONZALEZ, F.H.D.; DÜRR, J.W.; FONTANELLI, R.S. **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: UFRGS, 2001. p. 46-60.
- BEHMER, M. L. A. **Tecnologia do leite: produção, Industrialização, análise**. São Paulo: Nobel, 1999. 324 p.
- BRANDÃO, S.C.C. O futuro da qualidade do leite brasileiro. **Indústria de Laticínios**, São Paulo, v. 5, n. 28, p. 68-71, 2000.

BRASIL. Instrução Normativa nº 51, de 20 de setembro de 2002. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite. **Diário Oficial da União**, Brasília, Seção 1, p. 13, 21 set. 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes**. Brasília, 1981. v. 2.

CENTRO DE ENSAYOS PARA EL CONTROL DE LA CALIDAD DE LÁCTEOS. **Manual de procedimientos técnicos operacionales**. Disponível em: <<http://www.exopol.com/general/circulares/142.html>>. Acesso em: 17 out. 2004.

CHANDLER, P. Achievement of optimum amino acid balance possible. **Feedstuffs**, Minneapolis, v. 61, n. 26, p. 14, 1989.

COLDEBELLA, A.; MEYER, P.M.; CORASSIN, C.H.; MACHADO, P.F.; CASSOLI, L.D. Determinação do número mínimo de amostras mensais de leite, para pagamento por qualidade. **Revista Higiene Alimentar**, Itapetininga, v. 16, n. 97, p. 50-55, 2002.

DÜRR, J.W.; MORO, D.V.; RHEINHEIMER, V.; TOMAZI, T. Estado atual da qualidade do leite no Rio Grande do Sul. In: MESQUITA, A.J.; DÜRR, J.W.; COELHO, K.O. **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia: Talento Gráfica e Editora, 2006. p. 83-94.

FARRELL, H.M.; JIMENEZ-FLORES, R.; BLECK, G.T.; BROWN, E.M.; BUTLER, J.E.; CREAMER, L.K.; HICKS, C.L.; HOLLAR, C.M.; NG-KWAI-HANG, K.F.; SWAISGOOD, H.E. Nomenclature of the proteins of cows-milk-sixth revision. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, p. 1641-1674, 2004.

FISCHER, V.; MARQUES, L.T.; ZANELA, M.B.; RIBEIRO, M.E.R.; STUMPF, W.; RODRIGUES, C.M.; SÔNEGO, E.T.; VARELA, M.; GABANA, G. Ocorrência e caracterização do leite instável não ácido (LINA) e sua variação entre os meses na região sul do Rio Grande do Sul. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais ...** Campo Grande, SBZ, 2004a. 1 CD-ROM.

FISCHER, V.; ZANELA, M.B.; MARQUES, L.T.; RIBEIRO, M.E.R.; STUMPF JÚNIOR, W.; GOMES, J.F.; RECKZIEGEL, F.J.; VON HOUSEN, J.O.; MÁLAGA, F. Variação sazonal e composição do leite instável não ácido (LINA) na região de Panambi. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais ...** Campo Grande, SBZ, 2004 b. 1 CD-ROM.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO **ANUALPEC 2004**: anuário da pecuária brasileira. São Paulo, 2004. 400 p.

GONZÁLEZ, F.H.D. Pode o leite refletir o metabolismo da vaca. In: DÜRR, J.W.; CARVALHO, M.P.; SANTOS, M.V. **O compromisso com a qualidade do leite no Brasil**. Passo Fundo, Editora Passo Fundo, 2004. p.195-209

GUAN, R.; LIU, D.; YE, X.; YANG, K. Use of fluometry for determination of skim milk powder adulteration in fresh milk. **Journal of Zhejiang University**, Zhejiang, v. 6, n. 11, p. 1101-1106, 2005.

IBARRA, A.A. Sistema de Pagamento do leite por qualidade – visão global In: DÜRR, J.W.; CARVALHO, M.P.; SANTOS, M.V. **O compromisso com a qualidade do leite no Brasil**. Passo Fundo: Editora Passo Fundo, 2004. p. 72-87.

INSTITUTO BRASILEIRO DE DEFESA DO CONSUMIDOR. **Pesquisa detecta alto nível de soro no leite**. Disponível em: <<http://www.idec.org.br/noticia.asp?id=1348>>. Acesso em: 15 ago. 2006.

LOOPER, M.L.; STOKES, S.R.; WALDNER, D.N.; JORDAN, E.R. **Managing milk composition**: normal sources of variation. Guide D-103. Disponível em <www.cahe.nmsu.edu>. Acesso em 19 jun. 2005.

MABROOK, M.F.; DARBYSHIRE, A.M.; PETTY, M.C. Quality control of dairy products using single frequency admittance measurements. **Measurement Science and Technology**, Bristol, v.17, p. 275-280, 2006.

MARQUES, L.T.; BALBINOTTI, M.; FISCHER, V.; STUMPF JR, W.; PINO, F.A.B.; VARELA, M.; SALABERRY, S.; RECKZIEGEL, F.J.; CARBONARI, C. ; HAUSEN, L.J.O. Avaliação da estabilidade de leite à prova do álcool e da acidez titulável em diferentes meses e regiões na bacia leiteira de Pelotas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Campo Grande. **Anais ...** Santa Maria, SBZ, 2003. 1 CD-ROM.

MATTOS, W.R.S.; PEDROSO, A.M. Influência da nutrição sobre a composição de sólidos totais no leite. In: SIMPÓSIO SOBRE BOVINOCULTURA LEITEIRA, 5., 2005, Piracicaba. **Visão técnica e econômica da produção leiteira**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 103-128.

MONARDES, H. Programa de pagamento de leite por qualidade em Québec, Canadá. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 1., 1998, Curitiba. **Anais ...** Curitiba: UFPR, 1998. p. 40-43.

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

PARADKAR, M.M.; SINGHAL, R.S.; KULKARNI, P.R. Na approach to the detection of synthetic milk in dairy milk/; 3. Detection of vegetable oil and sodium bicarbonate. **International Journal of Dairy Technology**, Nalco, v. 54, n. 1, p. 34-35. 2001.

PHILPOT, W.N. Importância da Contagem de Células Somáticas e Outros Fatores que afetam a qualidade do Leite. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 1., 1998, Curitiba. **Anais...** Curitiba: UFPR, 1998. p.28-35.

PIRES, A.S. Fraudes em leite de consumo: limites de detecção. **Jornal da Produção de Leite – PDPL/RV**. Disponível em: <http://www.ufv.br/pdpl/jornal/jpl1000_j.htm>. Acesso em: 10 ago. 2006.

PONCE, C.P.; HERNANDEZ, R. Propriedades físicos-químicas do leite e sua associação com transtornos metabólicos e alterações na glândula mamária. In: GONZALEZ, F.H.D.; DÜRR, J.W.; FONTANELLI, R.S. **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: UFRGS, 2001. p. 61-72.

PONCE, C.P. Caracterización del síndrome de leche anormal: un enfoque de sus posibles causas y de su corrección. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE LEITE, 4., 1999, Caxambu. **Anais ...** Caxambu, FMVZ, 1999. p. 61-76.

REGULAMENTO DE INSPEÇÃO INDUSTRIAL E SANITÁRIA DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL. 2004. Disponível em: <<http://200.252.165.21/sda/dipoa/riispoa.htm>>. Acesso em: 04 maio 2004.

RIBEIRO, M.E.R.; STUMPF JÚNIOR, W.; BUSS, H. Qualidade de leite. In: BITENCOURT, D.; PEGORARO, L.M.C.; GOMES, J.F. **Sistemas de pecuária de leite: uma visão na região de clima temperado**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2000. p. 175-195.

SÁ, E. Análises para detectar fraudes em leite. **Leite & Derivados**, São Paulo, n. 78, p.14, 2004.

SANTOS, M.V. Contagem de células somáticas e qualidade do leite e derivados. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE LEITE, 5., 2001, Belo Horizonte. Belo Horizonte: Instituto Fernando Costa, 2001. p. 115-127.

_____. Aspectos não microbiológicos afetando a Qualidade do Leite. In: DÜRR, J.W.; CARVALHO, M.P.; SANTOS, M.V. **O compromisso com a qualidade do leite no Brasil**. Passo Fundo: Editora Passo Fundo, 2004. p. 269-283.

_____. **Alterações na estabilidade do leite**. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/mn/redarestecnicos/artigo.asp>>. Acesso em: 11 maio 2005.

SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. **Estratégias para controle de mastite e qualidade do leite**. São Paulo: Editora Manole, 2007. 314 p.

SILVA, P.H.F. **Leite UHT**: fatores determinantes para sedimentação e gelificação. 2003. 150 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

SILVA, P.H.F.; ALMEIDA, M.C.F. **Estabilidade térmica do leite**. Disponível em: <<http://www.atrius.com.br>>. Acesso em: 14 abr. 2004.

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

SWAISGOOD, H.E. Review and update of casein chemistry. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.76, p.3054-3061, 1993.

TEIXEIRA, N.M.; FREITAS, A.F.; BARRA, R.B. Influência de fatores de meio ambiente na variação mensal da composição e contagem de células somáticas do leite em rebanhos no Estado de Minas Gerais. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 55, n. 4, p. 491-499, 2003.

TERVALA, H.L.; ANTILA, V.; SYVÄJÄRVI, J. Factors affecting the renneting properties of milk. **Meijeritieteellinen Aikakauskirja**, Helsinki, v.43, n.1, p.16-25, 1985.

TERVALA, H.L.; ANTILA, V.; SYVÄJÄRVI, J.; LINDSTRÖM, U.B. 1983. Variations in the renneting properties of milk. **Meijeritieteellinen Aikakauskirja**, Helsinki, v. 41, n. 2, p. 24-33, 1983.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **MD DA210**: East fluid milk and cream review. Report 10. Washington DC, 2004. Disponível em: <http://www.ams.usda.gov/dyfm/mib/in-areasales.htm>>. Acesso em 16 out. 2004.

VELOSO, A.C.A.; TEIXEIRA, N.; FERREIRA, I.M.P.L.V.O.; FERREIRA, M.A. Detecção de adulterações em produtos alimentares contendo leite e/ou proteínas lácteas. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 4, p. 609-615, 2002.

VIOTTO, W.H.; CUNHA, C.R. Teor de sólidos do leite e rendimento industrial. In: MESQUITA, A.J.; DÜRR, J.W.; COELHO, K.O. **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia: Talento Gráfica e Editora. 2006. p. 241-258.

WALSTRA, P.; JENNESS, R. Proteins. In: _____. **Dairy chemistry and physics**. New York: John Wiley, 1984. p. 8-122.

WILLIAMS, R.; JACHNIK, P. Fat: solids-non-fat price ration: international comparisons. **Bulletin of the International Dairy Federation**, Brussels, n. 266, p. 36-42. 1991.

3 VARIAÇÃO DO TEOR DE PROTEÍNA E OUTROS COMPONENTES DO LEITE E SUA RELAÇÃO COM PROGRAMA DE PAGAMENTO POR QUALIDADE

Resumo

A variação sazonal da qualidade do leite ao longo do ano é conhecida, porém, o efeito desta sobre os programas de pagamento por qualidade tornou-se elemento importante para os produtores leiteiros. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da variação da qualidade do leite, através do acompanhamento de amostras de leite provenientes de tanques refrigeradores. As amostras eram enviadas para o Laboratório “Clínica do Leite”/ESALQ/USP, de outubro/05 a setembro/06. Foram realizadas análises de composição, contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total. As condições climáticas foram avaliadas pela temperatura e umidade do ar coletadas através de estações meteorológicas distribuídas em todo o Estado de São Paulo. Como resultado foram identificados os meses que influenciaram diretamente ou indiretamente os componentes do leite e assim, a influência sobre o preço do leite pago dentro de um programa. A bonificação atingiu valor médio de 8,5% nos meses de outono. Um dos mais importantes itens relacionados com a penalização foi a CCS que pode interferir na qualidade dos produtos finais através da alteração da proporção de caseína/proteínas do soro. Assim o efeito da CCS e da época do ano devem ser considerados na formulação das tabelas de programas de pagamento.

Palavras-chave: Sazonalidade; Pagamento por qualidade; Efeitos climáticos

PROTEIN CONTENT AND OTHER MILK COMPONENTS CHANGES RELATED TO QUALITY PAYMENT PROGRAM

Abstract

The seasonal variation of the milk quality throughout the year is known, however the effect of this within the programs of payment for quality became an important element for the milk producers. The objective of this study is to evaluate the effect of the variation of the milk quality through the observation of milk samples proceeding from cooling tanks. The samples have been sent for the Clinical Laboratory “Clínica do Leite”/ESALQ/USP, from October 2005 till September 2006. Analysis of the milk composition, somatic cells count (SCC) and total bacterial count have been carried through. The climatic conditions have been evaluated by the temperature and the air humidity gathered through some meteorological stations which are distributed throughout all the State of São Paulo. After that the months, which have directly or indirectly influenced the milk components and thus which have also influenced the price of the milk inside of a payment program, have been identified. The bonification reached an average value of 8,5% in the autumn months. One of the most important items related to the penalization has been the SCC, which can interfere at the final product quality through the alteration of the ratio casein/serum proteins. Thus the effect of the

CCS and the season must be both considered when planning the tables of the payment programs.

Keywords: Seasonability; Payment for milk quality; Environmental effects

3.1 Introdução

Considerando o Brasil um país em desenvolvimento, a produção de leite correspondido com esta afirmação com aumento anual de aproximadamente 4 % ao ano na média dos últimos 10 anos registrados em 2003, apresentando no ano de 2004 produção total de 21 bilhões de litros segundo FNP (2004).

Ao se referir à qualidade do leite, deve-se ater principalmente à qualidade da matéria prima que é ponto de extrema importância no processo de inserção do Brasil no mercado mundial de lácteos. Essa questão envolve mudança radical nas normas de recepção do leite (contagem bacteriana, crioscopia, acidez, células somáticas, etc.) e introdução de normas de origem (refrigeração na propriedade, coleta a granel e ordenha mecânica), conforme preconizado no Programa de Melhoria da Qualidade do Leite (ALVIM; MARTINS, 2005).

O termo qualidade do leite é atualmente muito utilizado devido à importância e ao foco dado à valorização dos componentes do leite na formulação do preço do produto pago ao produtor, especialmente para empresas que pretendem ampliar a participação no mercado de leite fluido e internacional (ALVARES, 2005).

A determinação de um leite com qualidade pode ser definida em termos de sua integridade, ou seja, livre da adição de substâncias e/ou remoção de componentes; de sua composição química e características físicas; e de sua deterioração microbiológica e presença de patógenos (DÜRR, 2004). Monardes (1998) ainda destaca que a qualidade do leite também está relacionada a características organolépticas (odor, sabor, aspecto).

Existem iniciativas governamentais visando padronizar e melhorar a qualidade do leite, como a implantação de normas nacionais de padrões de qualidade do leite, determinadas pelo Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (RIBEIRO et al., 2000) que compõem a Instrução Normativa 51 já em vigor (BRASIL, 2002).

As indústrias de grande porte, no início da década de 90, passaram a estabelecer novos requisitos para o recebimento do leite, vinculando a remuneração ao produtor justamente com a qualidade da matéria-prima, com intuito de instituir de forma progressiva o pagamento diferenciado do produto de acordo com sua qualidade.

Em contrapartida, com a iniciativa do governo através do Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite, algumas indústrias iniciaram a implantação de programas de pagamento por qualidade, como instrumento para incentivar o produtor a buscar pela melhoria de seu produto e, indiretamente, para obter melhor rendimento industrial. Além do pagamento de bonificações pelo leite de alta qualidade, podem ser utilizadas penalizações para o leite de baixa qualidade. Esses programas têm sido ferramentas poderosas para motivar os produtores a melhorar a qualidade do leite cru. Em geral, os incentivos por qualidade variam entre as indústrias ou cooperativas, mas a contagem de células somáticas, a contagem total de bactérias, a ausência de resíduos de antibióticos e outros inibidores são os principais contemplados para aferir a qualidade do leite.

Diante do exposto, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da sazonalidade dos componentes do leite que fazem parte da classificação utilizada por programas de pagamento por qualidade do leite produzido e, assim, o efeito sobre o preço do leite pago ao produtor.

3.2 Material e Métodos

Durante 12 meses (outubro de 2005 a setembro de 2006) foram avaliadas 2.970 amostras de leite de tanques de expansão, divididas em dois frascos (dois tipos de conservantes) e recebidas refrigeradas (4°C) pelo laboratório Clínica do Leite da ESALQ/USP em Piracicaba, SP. A condução do experimento foi realizada com propriedades distribuídas nos Estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo. As amostras foram coletadas por técnicos treinados do laticínio participante do projeto.

Mensalmente, para uma das duas amostras de leite (50mL) de cada propriedade foram realizadas as seguintes análises: composição (gordura, proteína, lactose e extrato seco desengordurado), pH, acidez titulável e resistência à prova do álcool, sendo que estas amostras foram enviadas pelo laticínio conservadas com Bronopol®.

Em experimento anterior realizado com amostras preservadas com este conservante, não foi observada nenhuma influência deste sobre as análises físico-químicas (ZAGO et al., 2005). Na segunda amostra (50mL), destinada somente a contagem bacteriana total, esta foi preservada com o conservante de ação bacteriostático Azidiol (BARCINA et al., 1987). Durante todo o processo de logística, as amostras permaneceram sob refrigeração a 4°C desde a coleta até o momento da realização das análises.

As análises de composição do leite (proteína, gordura, lactose, extrato seco desengordurado) foram executadas eletronicamente por absorção infravermelha no equipamento Bentley 2000 (BENTLEY 2000, 1995). A CCS foi realizada através de contagem eletrônica por citometria fluxométrica utilizando o equipamento Bentley Somacount 300 (SOMACOUNT 300, 1995) no Laboratório de Fisiologia da Lactação, Clínica do Leite/ESALQ/USP. A CBT foi analisada através da metodologia de citometria de fluxo, utilizando o equipamento IBC Bactocount no Laboratório de Fisiologia da Lactação, Clínica do Leite/ESALQ/USP. Para garantir confiabilidade dos registros, foram excluídos valores nulos para contagem bacteriana e contagem de células somáticas, bem como valores de gordura abaixo de 2% e acima de 5%.

Para avaliação das condições climáticas, foram obtidos dados de temperatura ambiente, umidade relativa, pluviosidade, radiação solar de estações meteorológicas participantes do Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas (CIIAGRO) do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC)/Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, além da Estação Meteorológica do Departamento de Ciências Exatas, localizada na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP.

Para cálculo do índice de conforto térmico e para demonstração do efeito da variação climática afetando a qualidade do leite, foi calculado o índice de temperatura e umidade (ITU) proposto por Kelly e Bond (1971). Os valores são calculados a partir da temperatura ambiente e da umidade relativa do ar, conforme a fórmula a seguir: $ITU = T - 0,55 (1 - UR)(T - 58)$; onde T = temperatura ambiente (°F) e UR = umidade relativa do ar expressa como um valor decimal.

A completa avaliação do efeito da época sobre o pagamento por qualidade foi realizada através do levantamento do preço médio do leite pago aos produtores do Estado de São Paulo, durante o ano de 2005/2006, junto ao Centro de Estudos

Avançados em Economia Aplicada (CEPEA), do Departamento de Economia, Administração e Sociologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

Em relação ao programa de pagamento por qualidade do leite, foi utilizado um exemplo de bonificação/penalização citado por Bandeira (2004), apresentado na Tabela 3.

Tabela 3 - Tabelas de valores de bonificação/penalização em função dos parâmetros de qualidade do leite, como gordura, proteína, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total (BANDEIRA, 2004)

Gordura (%)		
MAIOR QUE	3,40	Bônus de 6% para cada ponto percentual
ENTRE	3,30 - 3,40	Sem bônus e sem desconto
MENOR QUE	3,30	Desconto de 6% para cada ponto percentual
Proteína (%)		
MAIOR QUE	3,05	Bônus de 6% para cada ponto percentual
ENTRE	3,00 - 3,05	Sem bônus e sem desconto
MENOR QUE	3,00	Desconto de 6% para cada ponto percentual
Contagem de Células Somáticas (1000 céls/mL)		
LIMITE DE BÔNUS	< 150	Bônus total de 7%
MENOR QUE	450	Bônus de 1% para cada redução de 50 céls/mL
ENTRE	450 - 500	Sem bônus e sem desconto
MAIOR QUE	500	Desconto de 1% para cada aumento de 50 céls/mL
LIMITE DE DESCONTO	> 750	Desconto total de 7%
Contagem Bacteriana Total (1000 ufc/mL)		
LIMITE DE BÔNUS	< 25	Bônus total de 4%
MENOR QUE	100	Bônus de 1% para cada redução de 25 UFC/mL
ENTRE	100 - 125	Sem bônus e sem desconto
MAIOR QUE	125	Desconto de 1% para cada aumento de 25 UFC/mL
LIMITE DE DESCONTO	> 200	Desconto total de 5%

O delineamento experimental adotado foi o completamente casualizado, considerando como fator os meses do ano. As variáveis coletadas foram submetidas à análise de variância utilizando-se o procedimento GLM, através do pacote estatístico SAS (2006), pelo teste de Tukey com nível de significância para rejeição da hipótese de nulidade de 5%.

3.3 Resultados e Discussão

A Tabela 4 apresenta os valores médios mensais para cada componente estudado. Em todos os componentes avaliados foram observadas variações significativas ao longo do ano. Ao avaliar o efeito do mês, apesar de ser observada

diferença, não pode ser definido o mês com maior ou menor teor (gordura e proteína), ou mesmo para contagem (células somáticas e bacteriana). Para componentes como gordura e proteína que apresentaram melhores resultados entre os meses de fevereiro e junho, com valores acima da média encontrada para cada componente. Estes componentes tiveram uma queda drástica no mês de janeiro. Esta queda no valor de proteína. Talvez a explicação para esta queda não esteja relacionada ao efeito da época do ano, pois pode ser visto esta variação em alguns laboratórios da Rede Brasileira de Monitoramento da Qualidade do Leite (FONSECA et al., 2006; MACHADO; CASSOLI, 2006; MACHADO et al., 2006) e em outros esta não foi observada (MESQUITA et al., 2006; SOUZA et al., 2006; DÜRR et al., 2006). Com exceção do mês de janeiro, existe uma depressão nos valores de gordura e proteína a partir do mês de julho, com os menores valores nos meses de setembro e outubro. Esta variação confirma o efeito da época do ano sobre estes componentes, estando de acordo com Head (1989). Porém este efeito não foi encontrado somente no período de verão conforme o autor, mas sim, iniciando no período de primavera.

Tabela 4 - Valores mensais médias para gordura, proteína, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total das amostras analisadas

MÊS	Gordura (%)	Proteína (%)	CCS (1000cél/s/mL)	CBT (1000ufc/mL)
Out/05	3,41 fg	3,07 d	396 g	181 b
Nov/05	3,54 cd	3,17 b	447 fg	181 b
Dez/05	3,49 de	3,17 b	625 abc	331 a
Jan/06	3,35 g	3,07 d	701 a	77 d
Fev/06	3,45 ef	3,18 b	655 ab	111 c
Mar/06	3,61 b	3,28 a	574 bcde	76 d
Abr/06	3,68 a	3,27 a	504 def	63 def
Mai/06	3,69 a	3,19 b	559 cde	47 f
Jun/06	3,58 bc	3,16 b	576 bcd	61 def
Jul/06	3,51 cde	3,13 c	547 cde	71 de
Ago/06	3,47 def	3,08 d	499 ef	59 def
Set/06	3,46 ef	3,07 d	693 a	53 ef

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna, diferem entre si ($P < 0,05$)

¹ CCS – Contagem de células somáticas

² CBT – Contagem bacteriana total

A variação do teor de proteína já foi apresentada na literatura, porém com valores variando de 2,82 a 3,25% (MARTINS et al., 2006), tendo os meses de julho e setembro, como os meses de maior e menor teor. Os resultados do presente estudo apresentaram a mesma amplitude de variação, com valores entre 3,07 e 3,28%

(diferença de 0,21 unidades percentuais), porém, não foram coincidentes os meses extremos para o teor. Uma possível explicação seria pelo fato do trabalho citado ter sido realizado na região sul do país, onde o regime de chuvas, temperatura, entre outros fatores diferem da região sudeste, interferindo no teor de proteína.

Para outros constituintes do leite, como contagem de células somáticas e contagem bacteriana total, ocorreu relação positiva entre os valores menos satisfatórios e os meses de setembro e fevereiro (época primavera/verão) bem como novembro a janeiro (final da primavera/começo verão), respectivamente. Em relação aos resultados mais satisfatórios, estes foram encontrados nos meses de março a julho para a CCS, e nos meses de abril e julho, além de setembro, para CBT. Os resultados deste estudo estão de acordo com os apresentados por Smith et al. (1985), que o estresse de altas temperaturas e umidade podem aumentar a suscetibilidade a infecções, bem como aumentar o número de patógenos aos quais as vacas estão expostas.

Avaliando a influência de fatores do meio ambiente na variação mensal da composição e contagem de células somáticas do leite, em rebanhos do Estado de Minas Gerais, Teixeira et al. (2003) verificaram que os teores de gordura e proteína eram maiores nos meses de inverno e menores nos meses de verão. Diante destas análises em função da época do ano, na Tabela 5 foram apresentados os resultados médios para as estações do ano. De acordo com esta análise pode ser observado que o outono apresentou-se como época de melhor qualidade do leite. A qualidade do leite contemplou diferenciação significativa ($P < 0,05$) na elevação do teor de gordura e proteína, bem como diminuição da contagem bacteriana total. Apenas a contagem de células somáticas não apresentou menor valor para a época de outono, apresentando o melhor valor na primavera.

Tabela 5 - Valores médios para gordura, proteína, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total das amostras analisadas por época do ano

Época	Gordura (%)	Proteína (%)	Contagem de Células Somáticas (1000cél/s/mL)	Contagem Bacteriana Total (1000ufc/mL)
Primavera	3,48 b	3,13 c	467 c	207 a
Verão	3,48 b	3,18 b	638 a	89 b
Outono	3,65 a	3,21 a	542 b	57 c
Inverno	3,48 b	3,10 d	568 b	60 c

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna, diferem entre si ($P < 0,05$)

Com intuito de verificar o efeito do clima sobre os componentes do leite, na Tabela 6 são apresentados os valores médios por estação do ano para alguns fatores climáticos. Baseado nos resultados climáticos encontrados, pode ser observada a relação entre melhoria da qualidade do leite com menor temperatura média, umidade relativa, precipitação, bem como um melhor índice de conforto.

Tabela 6 - Valores médios dos aspectos climáticos estudados para o período experimental

Época	Temperatura Média (°C)	Umidade Relativa Média (%)	Precipitação Média (mm/dia)	Índice de Temperatura e Umidade (ITU)
Primavera	23,79 b	81,21 ab	3,97 b	73 b
Verão	25,23 a	83,72 a	6,34 a	76 a
Outono	19,46 d	79,06 b	0,60 c	66 c
Inverno	20,15 c	71,86 c	1,14 c	66 c

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem entre si ($P < 0,05$)

Pesquisas mostrando o efeito do clima sobre a qualidade do leite já foram apresentadas, porém, um aspecto muito importante quando são relacionados com a produção de leite seria a relação deste fator (clima) sobre os aspectos econômicos. No caso mais específico seria o impacto do clima sobre a remuneração do produtor em função da qualidade do leite produzido. Na Tabela 7 podem ser observados os valores parciais, médias para cada componente avaliado de acordo com a tabela de pagamento por qualidade do leite proposta por Bandeira et al. (2004).

Tabela 7 - Porcentagem média de Bonificação ou Penalização pela qualidade de leite e os respectivos valores econômicos apresentados durante os meses do período experimental

Mês	Bonificação/Penalização média (%)				Bonificação/ Penalização Total (%) ³	Preço Médio ⁴ (R\$)	Valor Monetário do Pagamento por Qualidade (R\$)
	Gordura	Proteína	CCS ¹	CBT ²			
Out/05	0,88	1,66	0,33	-1,66	1,21 e	0,433	0,005
Nov/05	2,82	4,59	-0,66	-1,79	4,96 cd	0,425	0,021
Dez/05	2,17	4,71	-2,61	-3,43	0,84 e	0,431	0,004
Jan/06	0,28	2,27	-3,34	0,16	-0,62 e	0,451	-0,003
Fev/06	1,92	4,96	-2,95	-0,60	3,33 d	0,470	0,016
Mar/06	4,04	5,83	-2,30	0,23	7,80 ab	0,511	0,040
Abr/06	4,12	5,56	-1,27	0,63	9,04 a	0,554	0,050
Mai/06	4,47	4,79	-1,87	1,07	8,45 a	0,595	0,050
Jun/06	3,28	4,33	-2,17	0,67	6,11 bc	0,569	0,035
Jul/06	2,75	3,59	-1,71	0,29	4,91 cd	0,569	0,028
Ago/06	2,22	1,87	-0,96	0,58	3,71 d	0,550	0,020
Set/06	1,82	1,08	-3,19	0,92	0,63 e	0,530	0,003
Média	2,56	3,77	-1,89	-0,24	4,20		0,022

¹ CCS – Contagem de células somáticas

² CBT – Contagem bacteriana total

³ Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna, diferem entre si (P<0,05)

⁴ Preço mensal médio pago aos produtores dos Estados de Minas Gerais e São Paulo (CEPEA, 2006)

Quanto ao pagamento por qualidade, na Tabela 7 foram apresentados os valores parciais para cada componente e o total para cada mês avaliado. Na Tabela 7 também foram inseridos os valores de preço médio por litro de leite pago aos produtores dos Estados de Minas Gerais e São Paulo, bem como o valor final da bonificação/penalização pela qualidade apresentada. Pode ser observado que não ocorreu penalização no balanço total, com exceção para o mês de janeiro. Mesmo com a variação sazonal, o produtor obteve na média uma bonificação de 4,2% por litro de leite. Nos meses de março a junho houve um expressivo aumento na bonificação do preço por litro de leite, apresentando o valor máximo de bonificação nos meses de abril e maio (acima de 8,5%), alcançando o valor monetário de até R\$0,05 por litro de leite entregue. Pode ser verificado que no mês de abril e maio, a bonificação foi maior devido aos altos teores de gordura e proteína no leite.

Por outro lado, ao considerar somente a contagem de células somáticas, apenas no mês de outubro foi encontrada bonificação. Nos outros meses pode ser observada apenas penalização, com seu valor máximo no mês de janeiro. Na Tabela 8 pode ser

observado o valor da bonificação/penalização por litro de leite em função da época do ano.

Tabela 8 - Porcentagem média de Bonificação ou Penalização pela qualidade de leite apresentada durante as épocas do ano avaliadas

Mês	Bonificação/Penalização (%)				Bonificação/Penalização Total (%)
	Gordura	Proteína	CCS ¹	CBT ²	
Primavera	1,96	3,65	-0,98	-2,30	2,34 b
Verão	2,08	4,35	-2,86	-0,07	3,50 b
Outono	3,96	4,89	-1,77	0,79	7,87 a
Inverno	2,26	2,18	-1,95	0,60	3,08 b

¹ CCS – Contagem de células somáticas

² CBT – Contagem bacteriana total

Como observado na Tabela 8, o período de maior bonificação pela qualidade do leite produzido foi no outono, com média de bonificação de 7,87%. Sendo que o fator de maior importância para atingir este valor foi a penalização pela contagem de células somáticas. Mas também os maiores valores de bonificação para gordura e proteína.

Os teores de gordura e proteína em todas as estações apresentaram bonificação. Já a contagem bacteriana foi somente quesito de bonificação nos meses de outono e inverno, que foram as épocas que apresentaram menores valores para temperatura, umidade relativa, precipitação, bem como melhor índice de conforto térmico (Tabela 6).

A contagem de células somáticas foi o único quesito que gerou penalização ao longo das quatro estações do ano, apresentando o pico de penalização na época do verão. Segundo Harmon (1994), a influência da estação do ano sobre escores durante a lactação provavelmente não é causada por mudanças de temperatura e umidade, mas por exposição das extremidades dos tetos aos patógenos do ambiente, resultando em novas infecções. Não há evidências de que o estresse térmico aumente diretamente a CCS em glândulas saudáveis. A CCS menor no inverno e maior no verão coincide com a incidência de mastite clínica durante os meses de verão (HARMON, 1994).

Observa-se no verão, uma elevação na porcentagem de novas infecções na glândula mamária, podendo indicar maior quantidade de bactérias presentes na superfície dos tetos e/ou menor resistência imunológica (MACHADO, 1998).

De acordo com Smith et al. (1985), o estresse de altas temperaturas e umidade, característicos da época de verão, pode aumentar a suscetibilidade a infecções, bem como aumentar o número de patógenos aos quais as vacas estão expostas.

Contudo, deve ser ressaltada que o aumento das células somáticas influencia diretamente outros componentes do leite. De acordo com Politis e Ng-Kwai-Hang (1988), a ocorrência de mastite resulta em uma redução na quantidade de leite sintetizado e em mudanças nos níveis de componentes específicos do leite, reduzindo sua qualidade. Dentre os principais componentes alterados e que participa das tabelas de pagamento por qualidade está a proteína do leite. Segundo Schultz (1977), os efeitos das mastites sobre a proteína do leite são de natureza qualitativa, uma vez que os valores absolutos de proteína bruta não sofrem alterações significativas.

O leite proveniente de vacas com mastite apresenta menor teor de caseína, que é a proteína nobre do leite, porém há aumento dos níveis de proteínas séricas, como soroalbuminas e imunoglobulinas. Ballou et al. (1995) observaram que a porcentagem de caseína foi significativamente maior quando o leite era proveniente de um grupo de vacas que apresentava baixa CCS em relação a grupos de maiores contagens. A influência da mastite sobre a composição caracteriza consideráveis prejuízos à indústria de laticínios, reduzindo os teores de cálcio, lactose, caseína e gordura, além de aumentar os níveis de íons sódio, cloro e de proteínas séricas (KITCHEN, 1981; OLIVEIRA et al., 1999).

Com isso, surge a necessidade de métodos alternativos para o pagamento do leite pela sua qualidade, porém, aliada com a idéia de remuneração corretamente do produtor e também com a idéia de rendimento industrial por parte da indústria. Assim, para um programa de pagamento contemplar corretamente a qualidade do leite, uma alternativa seria considerar a proporção de caseína da proteína total. De acordo com Belloque e Ramos (2002) a proporção de caseína pode ser usada como parâmetro de qualidade do leite pela indústria.

3.4 Conclusões

Os meses do ano afetaram direta e indiretamente a composição do leite, qualidade microbiológica e ocorrência de mastite. Esta influência exerce pressão direta

sobre o desempenho dos animais, mas também pode exercer mudanças sobre o manejo dos animais, bem como na nutrição destes, através da qualidade do volumoso e da disponibilidade dos ingredientes do concentrado. Como resultado da influência direta ou indiretamente, o leite foi produzido com características que influenciaram a bonificação/penalização dos produtores que participam de programas de pagamento por qualidade. Sendo que esta bonificação chegou a interferir no preço do leite acima de 8,5%, favorecendo assim aos produtores comprometidos a produzir leite de qualidade. Esta influência sobre o pagamento por qualidade também deve ser considerada na formulação das tabelas de pagamento. Sendo assim, para evitar os efeitos principalmente da contagem de células somáticas, o ideal seria trabalhar com programa de pagamento utilizando não só o teor de proteína bruta, mas sim a relação de caseína dentro do teor de proteína bruta, teor este diretamente relacionado com rendimento industrial e qualidade do leite.

Referências

- ÁLVARES, J.G. Pagamento do leite por sólidos. In: SIMPÓSIO SOBRE BOVINOCULTURA LEITEIRA, 5., 2005, Piracicaba. **Visão técnica e Econômica da Produção Leiteira**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 129-140.
- ALVIM, R.S.A.; MARTINS, M.C. Mercado nacional e internacional do leite. In: SIMPÓSIO SOBRE BOVINOCULTURA LEITEIRA, 5., 2005, Piracicaba. **Visão técnica e Econômica da Produção Leiteira**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 7-24.
- BALLOU, L.U.; PASQUINI, M.; BREMEL, R.D.; EVERSON, T.; SOMMER, D. Factors affecting herd milk composition and milk plasmin at four levels of somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 78, p. 2186-2195, 1995.
- BANDEIRA, A. **Leite**: pagamento por qualidade: a experiência do Pool Leite ABC. Disponível em: < http://www3.pr.gov.br/e-parana/atp/programaleite/pdf/pagamento_qualidade.pdf>. Acesso em: 19 dez. 2004.
- BARCINA, Y.; ZORRAQUINO, M.A.; PEDAUYE, J.; ROS, G.; RINCON, F. Azidiol as a perservative for milk samples. **Anales de Veterinaria de Murcia**, Murcia, v. 3, p. 65-69, 1987.
- BELLOQUE, J.; RAMOS, M. Determination of the casein content in bovine milk by ³¹P-NMR. **Journal of Dairy Research**, London, v. 69, p. 411-418, 2002.

BENTLEY 2000. **Operator's manual**. Chaska: Bentley Instruments, 1995. 77 p.

BRASIL. Instrução Normativa nº 51, de 20 de setembro de 2002. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite. **Diário Oficial da União**, Brasília, Seção 1, p.13, 21 set.2002.

CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA. **Boletim do Leite – Preços ao Produtor**. Disponível em: <www.cepea.esalq.usp.br/page.php?id_page=155>. Acesso em: 10 dez. 2006.

DÜRR, J.W. Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do leite: uma oportunidade única. In: DÜRR, J.W.; CARVALHO, M.P.; SANTOS, M.V. **O compromisso com a qualidade do leite no Brasil**. Passo Fundo: Editora Passo Fundo, 2004. p. 38-55.

DÜRR, J.W.; MORO, D.V.; RHEINHEIMER, V.; TOMAZI, T. Estado atual da qualidade do leite no Rio Grande do Sul. In: MESQUITA, A.J.; DÜRR, J.W.; COELHO, K.O. **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia: Talento Gráfica e Editora, 2006. p. 83-94.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO **ANUALPEC 2004**: anuário da pecuária brasileira. São Paulo: 2004. 400 p.

FONSECA, L.M.; RODRIGUES, R.; CERQUEIRA, M.M.O.P.; FONSECA, C.S.P.; LEITE, M.O.; SOUZA, M.R.; PENNA, C. Situação da qualidade do leite cru em Minas Gerais. In: MESQUITA, A.J.; DÜRR, J.W.; COELHO, K.O. **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia: Talento Gráfica e Editora, 2006. p. 23-37.

HARMON, R.J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, n. 7, p. 2103-2112, 1994.

HEAD, H.H. The strategic use of the physiological potential of the dairy cow. In: SIMPÓSIO DE LEITE NOS TRÓPICOS: NOVAS ESTRATÉGIAS DE PRODUÇÃO, 1., 1989, Botucatu. **Anais ...** Botucatu: UNESP 1989. p. 38-89.

KELLY, C.F., BOND, T.E. Bioclimatic factors and their measurement. In: KELLY, C.F., BOND, T.E. (Ed.). **A guide to environmental research on animals**. Washington: IAS, 1971. chap. 1, p. 7-92.

KITCHEN, B.J. Review of the progress of dairy science: bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests. **Journal of Dairy Research**, London, v. 48, p. 167-188, 1981.

MACHADO, H.G.P.; PEREIRA, I.B.; KICHEL, M.S. Situação atual da qualidade do leite em Santa Catarina. In: MESQUITA, A.J.; DÜRR, J.W.; COELHO, K.O. **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia: Talento Gráfica e Editora, 2006. p. 73-82.

MACHADO, P.F. Efeitos da alta temperatura sobre a produção, reprodução e sanidade de bovinos leiteiros. In: SILVA, I.J.O. **Ambiência na produção de leite em clima quente**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 179-188.

MACHADO, P.F.; CASSOLI, L.D. Diagnóstico da qualidade do leite na região Sudeste. In: MESQUITA, A.J.; DÜRR, J.W.; COELHO, K.O. **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia: Talento Gráfica e Editora, 2006. p. 55-72.

MARTINS, P.R.G.; SILVA, C.A.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M.E.R.; STUMPF JÚNIOR, W.; ZANELLA, M.B. Produção e qualidade do leite na bacia de Pelotas – RS em diferentes meses do ano. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 1, p. 209-214, 2006.

MESQUITA, A.J.; NEVES, R.B.S.; COELHO, K.O.; BUENO, V.F.F.; MESQUITA, A.Q. A qualidade do leite na região Centro Oeste. In: MESQUITA, A.J.; DÜRR, J.W.; COELHO, K.O. **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia: Talento Gráfica e Editora. 2006. p. 9-21.

MONARDES, H. Programa de pagamento de leite por qualidade em Québec, Canadá. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 1., 1998, Curitiba. **Anais ...** Curitiba: UFPR, 1998. p. 40-43.

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

POLITIS, I.; NG-KWAI-HANG, K.F. Association between somatic cell count of milk and cheese-yielding capacity. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 71, p. 1720-1727. 1988.

RIBEIRO, M.E.R.; STUMPF JÚNIOR, W.; BUSS, H. Qualidade de leite. In: BITENCOURT, D.; PEGORARO, L.M.C.; GOMES, J.F. **Sistemas de pecuária de leite: uma visão na região de clima temperado**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2000. p. 175-195.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide**: version 9.1. Cary, 2006. 235 p.

SCHULTZ, L.H. Somatic cells in milk: physiological aspects and relationship to amount and composition of milk. **Journal of Food Protection**, Iowa, v. 40, p. 125-131. 1977.

SMITH, K.L.; TODHUNTER, D.A.; SCHOENBERGER, P.S. Environmental mastitis: cause, prevalence, prevention. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 68, n. 6, p. 1531-1553, 1985.

SOUZA, G.N.; BRITO, J.R.F.; FARIA, C.G. Qualidade do leite de rebanhos bovinos localizados na região Sudeste: Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Julho /2005 a Junho/2006. In: MESQUITA, A.J.; DÜRR, J.W.; COELHO, K.O. **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia, Talento Gráfica e Editora. 2006. p.39-53

TEIXEIRA, N.M.; FREITAS, A.F.; BARRA, R.B. Influência de fatores de meio ambiente na variação mensal da composição e contagem de células somáticas do leite em rebanhos no Estado de Minas Gerais. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 55, n. 4, p. 491-499, 2003.

ZAGO, C.A.; MARTINS, T.; ROMA JÚNIOR, L.C.; KANASHIRO, C.Y.; RODRIGUES, A.C.O.; MACHADO, P.F. Estudo da Proteína Instável: efeito do conservante e do armazenamento sobre o pH de amostras de leite. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 13., 2005, Piracicaba. **Anais ...** Piracicaba: ESALQ, 2005. 1 CR-ROM.

4 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE TÉRMICA DA PROTEÍNA DO LEITE PRODUZIDO NA REGIÃO SUDESTE

Resumo

O presente estudo teve como objetivo avaliar a qualidade da proteína do leite em termos de estabilidade térmica na Região Sudeste. Para isso foram realizadas três fases a saber: quantificação do problema de Proteína Instável; repetibilidade da ocorrência e análise dos fatores ligados a ocorrência de Proteína Instável. Na primeira fase foram acompanhadas ao longo de um ano, 2970 amostras provenientes de tanque de expansão. Durante este período, as amostras foram classificadas para identificar e quantificar a ocorrência de Proteína Instável. Na segunda fase, foi realizado o estudo da repetibilidade do problema através de amostras de tanque recebidas de propriedades identificadas com o problema. Já na terceira fase, foram verificadas as características das propriedades e fatores nutricionais que afetariam a ocorrência do problema. Como resultado, foi identificado 7% do volume total de leite produzido ao longo de um ano com o problema de Proteína Instável, sem existir influência geográfica. No entanto, houve influência da época do ano, sendo identificado o início do outono e o final do inverno com maior ocorrência. Quanto a qualidade do leite com Proteína Instável, este se mostrou com diminuição da estabilidade térmica, sem apresentar acidez elevada, porém, com diminuição do teor de lactose. O aparecimento e desaparecimento do problema ocorreram de forma espontânea, não mostrando repetibilidade do problema ao longo de um mês dentro da mesma propriedade. A identificação de Proteína Instável pela amostra de tanque de expansão revela que ao menos 23% dos animais em lactação estão relacionados com o problema. Este problema apresenta relação com animais em estágio de lactação avançado, diminuição do escore de condição corporal em condições de baixo consumo de matéria seca, especificamente ao baixo teor energético da dieta, explicado pela diminuição da lactose no leite.

Palavras-chave: Coagulação; Proteína Instável; Distúrbios metabólicos; Nutrição animal

EVALUATION OF THERMAL STABILITY FROM MILK PROTEIN PRODUCED IN BRAZILIAN SOUTHEAST REGION

Abstract

The present study has the objective of evaluating the quality of the milk protein regarding its thermal stability in the Brazilian Southeastern Region. For this evaluation three phases have been carried through as following: the quantification of the problem of the Unstable Protein; the repeatability of the occurrence and the analysis of the factors related to the occurrence of the Unstable Protein. In the first phase 2970 samples coming from bulk tanks have been observed. During this period, the samples have been

classified for identifying and for quantifying the Unstable Protein occurrence. In the second phase, the study of the repeatability of the problem has been performed through the usage of the samples which were sent by the facilities that had been identified as presenting the problem. Finally in the third phase, the characteristics of both the facilities and of the factors which would affect the occurrence of the problem have been verified. As a result, 7% of the total volume of the produced milk, throughout one year, have shown the Unstable Protein problem, without any kinds of geographic influence. However the season of the year has had an influence on this study, being identified the periods of the beginning of the autumn and of the end of the winter as the ones with higher number of occurrences. Concerning the milk quality presenting Unstable Protein, this has shown a reduction of its thermal stability, without presenting any kinds of raised acidity, however with reduction of the lactose level. Both the appearance and disappearance of the problem have occurred in a spontaneous way, without any repeatability of the problem throughout one month at the same facility. The Unstable Protein identification through the sample from the bulk tanks reveals that at least 23% of the animals in lactation are related to the problem. This problem presents a relation to animals which are in the advanced period of lactation, or to which ones which present a reduction of their corporal score due to the low consumption of dry substance, specifically to the low energy tenor of the diet, explained by the reduction of the lactose in the milk.

Keywords: Coagulation; Unstable Protein; Metabolic disease; Animal nutrition

4.1 Introdução

A proteína é atualmente o componente do leite mais valorizado na maioria dos países. A valorização desse componente em detrimento à gordura tem se tornado uma tendência, uma vez que os consumidores estão mais conscientes dos valores nutricionais e calóricos dos alimentos e suas relações com a saúde. Tal fato pode ser percebido pelo grande aumento do consumo de queijos e do estímulo à redução do consumo de gordura animal (SANTOS; FONSECA, 2007).

A importância do teor de proteína está diretamente relacionada com o rendimento industrial, principalmente de queijos. Mas além do teor, outro aspecto como a qualidade da proteína deve ser ressaltado e também relacionado com rendimento industrial durante o processamento do leite. O termo qualidade da proteína, diz respeito principalmente a capacidade de resistir ao processamento térmico, ou seja, estabilidade térmica do leite. Durante o tratamento térmico, ocorrem diversas mudanças, sendo que, as principais estão relacionadas com as estruturas das proteínas, entre elas as micelas de caseína (SILVA, 2003). Dessa maneira, a estabilidade está diretamente

relacionada com a capacidade do leite resistir à coagulação pelo calor e, portanto, a sua aptidão ao processamento térmico.

Em muitos processos, incluindo o tratamento UAT (Ultra Alta Temperatura), esterilização e produção de leite em pó, a geleificação ou sedimentação deve ser evitada com a utilização de leite com alta estabilidade térmica. Para outros processos, como na fabricação de queijos ou iogurtes, nos quais a coagulação e geleificação são necessárias, a baixa estabilidade do leite pode ser benéfica, desde que seja apto para o tratamento térmico anterior ao processamento para fins de segurança alimentar e aumentar o tempo de conservação (TSIOULPAS et al., 2006).

Santos e Fonseca (2007) comentaram sobre a estimativa da estabilidade térmica do leite poder ser conseguida de forma aceitável através da prova do álcool ou do alizarol. Esta prova é muito empregada nas indústrias de laticínio como teste para aceitação ou rejeição do leite no momento da recepção na plataforma ou mesmo na propriedade leiteira. A ocorrência de leite com instabilidade térmica, diagnosticada por esta prova, é um problema encontrado em várias regiões do Brasil, que resulta em matéria-prima com características inadequadas para produção de derivados lácteos, representando prejuízos para toda cadeia láctea (SANTOS, 2005).

Dos problemas de instabilidade térmica, muitos estão relacionados ao leite que apresenta elevada acidez em virtude da alta carga bacteriana. Entretanto, o problema pode também estar relacionado diretamente à qualidade da proteína do leite, sendo denominado Proteína Instável. O leite com Proteína Instável apresenta pH e acidez titulável normal, baixa contagem bacteriana e contagem de células somáticas, porém, mostra coagulação visível na prova do álcool.

A ocorrência deste problema ainda encontra-se pouco investigada devido à complexidade dos fatores envolvidos na estabilidade térmica do leite e sua ocorrência aleatória, criando o desafio de gerar conhecimento em busca de medidas de controle e/ou preventivas. Diante dos aspectos abordados com proteína do leite, o objetivo geral do presente estudo foi o diagnóstico da qualidade da proteína no leite produzido e enviado às indústrias de laticínio do Estado de Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo. Como objetivos específicos, foram a quantificação da ocorrência do problema denominado Proteína Instável no leite produzido na região Sudeste ao longo de um

ano; verificação da relação entre a ocorrência de Proteína Instável com características de qualidade do leite; localização geográfica; época do ano e algumas características das propriedades leiteiras; estudo da repetibilidade da ocorrência do problema ao longo de um mês; análise do fenômeno através de características zootécnicas das propriedades identificando as causas do problema de Proteína Instável e determinação de medidas de controle e/ou preventivas para diminuição da ocorrência de Proteína Instável de acordo com as causas identificadas.

4.2 Material e Métodos

O estudo foi realizado em três fases, com duração total de dois anos. Na primeira fase, a ocorrência da Proteína Instável foi identificada e quantificada. Na segunda contemplou o estudo da repetibilidade do problema dentro dos sistemas de produção relacionados com a ocorrência. Por fim, na terceira fase foram identificadas as causas do fenômeno, avaliando, nas propriedades onde o problema ocorreu, as características de manejo e alimentação a que os animais estavam submetidos.

Fase 1 (Quantificação do fenômeno) – Durante 12 meses (outubro de 2005 a setembro de 2006), foram avaliadas 2.970 amostras de leite de tanques de expansão, divididas em dois frascos (dois tipos de conservantes) e recebidas refrigeradas (4°C) pelo laboratório Clínica do Leite da ESALQ/USP em Piracicaba, SP. As amostras foram coletadas por técnicos treinados do laticínio participante do projeto.

As propriedades foram escolhidas de acordo com as rotas, sendo que as rotas deveriam ter pelo menos uma propriedade no Estado de São Paulo. Diante desta regra foram escolhidas 59 rotas.

Mensalmente, para uma das duas amostras de leite (50mL) de cada propriedade foram realizadas as seguintes análises: composição (gordura, proteína, lactose e extrato seco desengordurado), pH, acidez titulável e resistência à prova do álcool, sendo que estas amostras foram enviadas pelo laticínio conservadas com Bronopol®. Em experimento anterior realizado com amostras preservadas com este conservante, não foi observado nenhuma influência deste sobre as provas de qualidade da proteína (prova do álcool, pH e acidez titulável) (ZAGO et al., 2005). Para a segunda amostra

(50mL), destinada somente a contagem bacteriana total, esta foi preservada com o conservante de ação bacteriostático Azidiol (BARCINA et al., 1987). Durante todo o processo de logística, as amostras permaneceram sob refrigeração a 4°C, desde o momento da coleta até o momento da realização das análises.

Conforme adaptação da classificação de amostras de leite feita pelo CENLAC (2004), foram excluídas amostras de leite provenientes de tanques com contagem de células somáticas (CCS) acima de 1.000.000 céls/mL e contagem bacteriana total (CBT) acima de 1.000.000 ufc/mL. Foram classificadas como Proteína Instável, somente as amostras que apresentaram resultado positivo nas três provas (coagulação visível na prova do álcool, acidez titulável <18°D e pH >6,6) conforme a Figura 1.

Figura 1 - Representação esquemática do procedimento de classificação das amostras (Estável, Instável, Proteína Instável) para o experimento

As amostras que não apresentaram coagulação visível na prova do álcool 78% foram classificadas como Estável. Já as amostras que apresentaram coagulação visível na prova do álcool 78%, mas com pH abaixo de 6,6, bem como as amostras com CBT acima de 1.000.000 ufc/mL e CCS acima de 1.000.000 céls/mL, foram classificadas como Instável.

O pH foi mensurado logo após a recepção das amostras, utilizando o equipamento potenciômetro digital. A quantificação da acidez titulável foi realizada através da titulação com hidróxido de sódio (0,1N), usando como indicador a solução alcoólica de fenolftaleína (1%), segundo o Laboratório Nacional de Referência Animal (BRASIL, 1981).

Para determinação da estabilidade do leite (prova do álcool), foram colocados 2 mL de leite e 2 mL de álcool etanol, em placas de Petri, homogeneizando-as. Os resultados foram pontuados em escala de 1 a 5 como descrito por Balbinotti et al. (2002), sendo: 1 - leite estável com ausência de precipitação; 2 - leite instável com precipitação leve (grumos semelhantes à areia); 3 - leite instável com precipitação média (grumos mais espessos distribuídos uniformemente pela placa); 4 - leite instável com precipitação intensa (formação de grumos maiores localizados em alguns pontos da placa) e 5 - leite instável com precipitação muito intensa (formação de um coágulo semelhante a uma rede). Todas as escalas podem ser visualizadas na Figura 2.

Figura 2 - Escala utilizada para determinação da estabilidade do leite através da prova do álcool (1 – ausência de precipitação; 2 – precipitação leve; 3 – precipitação média; 4 – precipitação intensa; 5 – precipitação muito intensa)

Para o cálculo da estabilidade térmica, foi construída uma curva padrão com base em três valores de concentração do álcool seguindo o procedimento acima: 72, 75

e 78%, sendo 72% (exigido pela legislação), 78% (padrão usado pelo laticínio participante do projeto) e 75% (valor intermediário escolhido para construção da curva padrão). A curva padrão para cada combinação das três concentrações do álcool foi construída e, assim, calculada a estabilidade (ponto limite de concentração do álcool) para qual a amostra atingisse o valor de coagulação “4” (amostra com precipitação intensa) da escala sugerida por Balbinotti et al. (2002). Atingindo este valor, foi então marcada a concentração do álcool (em porcentagem) como ponto limite de estabilidade.

As análises de composição do leite (proteína, gordura, lactose, extrato seco desengordurado) foram executadas eletronicamente por absorção infravermelha no equipamento Bentley 2000 (BENTLEY 2000, 1995), conforme observado na Figura 3. A CCS foi realizada através de contagem eletrônica por citometria fluxométrica, utilizando o equipamento Bentley Somacount 300 (SOMACOUNT 300, 1995) no Laboratório de Fisiologia da Lactação, Clínica do Leite/ESALQ/USP, demonstrado na Figura 4. A CBT foi analisada através da metodologia de citometria de fluxo, utilizando o equipamento IBC Bactocount no Laboratório de Fisiologia da Lactação, Clínica do Leite/ESALQ/USP.

Figura 3 - Equipamento utilizado para análise da composição do leite - Clínica do Leite/ESALQ/USP

Figura 4 - Equipamento utilizado na contagem de células somáticas das amostras do experimento - Clínica do Leite/ESALQ/USP

A caracterização das propriedades foi realizada através das análises do leite, adicionadas de algumas informações fornecidas pelo laticínio. Informações estas, como: município, Estado, rota, e produção de leite diária. Ressalta-se que a produção diária foi calculada através do volume total de litros vendidos no mês, dividido pelo número de dias do referido mês para cada propriedade.

Diante da produção, as propriedades foram divididas em 5 grupos: grupo 1 – produção menor que 180 litros/dia; grupo 2 - produção entre 180 a 320 litros/dia; grupo 3 – produção entre 321 e 560 litros/dia; grupo 4 – produção entre 561 e 1000 litros/dia e grupo 5 – produção maior que 1000 litros/dia

Para a avaliação econômica da ocorrência de proteína láctea com baixa qualidade (Proteína Instável), foi realizado levantamento do preço médio do leite pago aos produtores do Estado de São Paulo durante o ano de 2005/2006 junto ao Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada, do Departamento de Economia, Administração e Sociologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

A variação sazonal da ocorrência dos casos classificados como Proteína Instável, foi realizada através do teste de Chi-quadrado. Para o estudo da influência da Proteína Instável sobre a composição do leite e a relação de sua ocorrência com características das propriedades, foi adotado o delineamento inteiramente casualizado,

considerando como variável classificatória as classes de estabilidade térmica do leite (leite estável, leite ácido e Proteína Instável). As variáveis dependentes como características físico-químicas do leite, composição, CCS e CBT foram submetidas à análise de variância pelo procedimento GLM - General Linear Models (SAS, 2006), quadrados mínimos, com nível de significância de 5%.

Fase 2 (Repetibilidade do Fenômeno) – Durante 5 semanas consecutivas (fevereiro e março de 2007), foi avaliada a repetição da ocorrência do problema de Proteína Instável. Para isso, foram recebidas 332 amostras de leite provenientes do tanque de resfriamento das propriedades pertencentes ao laticínio participante da Fase 1. Para a escolha das propriedades participantes desta fase, na primeira semana do estudo, foi realizada a classificação das amostras em Estável, Instável e Proteína Instável (mesmo procedimento da Fase 1), onde todas as propriedades que tiveram sua amostra classificada como Proteína Instável foram selecionadas.

Semanalmente, cada propriedade escolhida tinha 2 amostras de leite de 50 mL (dois tipos de conservante) provenientes do tanque de expansão coletadas. As amostras eram enviadas logo após sua coleta sob refrigeração (4°C) para o laboratório Clínica do Leite da ESALQ/USP em Piracicaba, SP. As amostras foram coletadas por técnicos treinados do laticínio participante do projeto.

As amostras conservadas com Bronopol[®] seguiam para as análises de composição (gordura, proteína, lactose e extrato seco desengordurado), CCS e características físico-químicas (pH, acidez titulável e prova de estabilidade ao álcool). Já as amostras conservadas com Azidiol foram utilizadas para a CBT. De acordo com os resultados, as mesmas foram classificadas (Estável, Instável e Proteína Instável), seguindo o mesmo procedimento da Fase 1.

Para esta Fase, foi utilizada a estimativa dos coeficientes de correlação de Pearson, através do procedimento PROC CORR (SAS, 2006), com 5% de probabilidade de erro.

Fase 3 (Análise do Fenômeno) – A análise da ocorrência iniciou-se com a escolha das propriedades participantes. Para o processo de escolha foram utilizados

dois grupos de acordo com os resultados da Fase 1: propriedades sem histórico de ocorrência de Proteína Instável (Grupo Controle) e propriedades com histórico de Proteína Instável (Grupo Experimental). As propriedades sem histórico não apresentaram ao longo de um ano (Fase 1) nenhuma amostra classificada como Proteína Instável. Já as propriedades com histórico foram aquelas que apresentaram ao menos 50% das amostras da Fase 1 (6 em 12 amostras possíveis) identificadas com Proteína Instável.

Definidos os grupos, o laticínio disponibilizou acesso a 12 propriedades (6 com histórico e 6 sem histórico), as quais receberam visita técnica para coleta de leite individual de todos os animais em lactação, bem como dados zootécnicos de cada propriedade. As visitas foram realizadas durante o mês de maio de 2007 na região de Poços de Caldas (MG) e Guaratinguetá (SP).

A visita iniciou-se com o acompanhamento do manejo dos animais antes (Figura 5), durante e após a ordenha completa. Ao término da ordenha individual, foi pesado o leite do animal (Figura 6) e logo após, coletada uma amostra (50mL) de cada animal, a qual foi preservada com o conservante Bronopol[®]. Todos os animais foram classificados conforme o escore de condição corporal através da cobertura muscular, deposição de gordura na inserção da cauda, costado, escápula e região lombar, em que foram atribuídas notas variando de 1 a 5, com intervalo de 0,5 pontos, conforme descrito por Ruas et al. (2000). Através do responsável técnico da propriedade, foram coletados os dados de data do último parto para cálculo do estágio de lactação dos animais. Algumas características da ordenha foram anotadas, como, por exemplo, o tipo de ordenha, procedimento de lavagem e secagem dos tetos, pós-dipping e a presença ou não de bezerros.

Figura 5 - Vista dos animais momento antes da ordenha de uma das propriedades participantes do experimento

Figura 6 - Realização do controle leiteiro para o experimento

Ao término da coleta, para cada propriedade visitada, foram coletadas duas amostras (50mL) do tanque de expansão. Uma das amostras, destinada para análise da composição, características físico-químicas e CCS, foi preservada com o

conservante Bronopol[®]. A segunda amostra para CBT foi preservada com o conservante Azidiol.

No que diz respeito à característica da propriedade foram coletados os dados referentes ao manejo nutricional praticado no mês da visita.

Com o término da visita, todas as amostras (individuais e tanque de expansão) foram enviadas para o laboratório Clínica do Leite para a realização das análises. As amostras coletadas individualmente foram analisadas quanto a composição (gordura, proteína, lactose e extrato seco desengordurado), CCS e características físico-químicas do leite (pH, acidez titulável e estabilidade na prova do etanol). Para as amostras do tanque de expansão, foram realizadas todas as provas anteriormente citadas além da CBT da amostra preservada com Azidiol. As metodologias de análise foram as mesmas utilizadas na Fase 1.

As análises estatísticas descritivas foram realizadas através do pacote computacional SAS (2006). Para a determinação da associação de características dos animais, bem como características da propriedade com a ocorrência de Proteína Instável foram realizadas análises de regressão logística, utilizando-se para tal, o procedimento LOGISTIC do SAS (2006).

Alguns dados coletados, por não apresentarem distribuição normal, foram categorizados de acordo com o quesito avaliado. Os quesitos categorizados foram: estágio de lactação, escore de condição corporal, produção de leite, relação gordura: proteína e nitrogênio uréico no leite.

Para a produção de leite, os animais foram divididos em 3 classes, a saber: classe 1 - 0 a 10 litros/dia; classe 2 – 10,1 a 20 litros/dia; classe 3 – maior que 20,1 litros/dia. O estágio de lactação foi dividido em 5 classes, a saber: classe 1 – 0 a 45 dias; classe 2 – 46 a 100 dias; classe 3 – 101 a 200 dias; classe 4 – 201 a 300 dias; classe 5 – maior que 301 dias de lactação. O escore de condição corporal foi classificado em: classe 1 – escore menor que 1; classe 2 – escore entre 1,5 e 2; classe 3 – escore entre 2,5 e 3; classe 4 – escore entre 3,5 e 4; classe 5 – escore maior que 4,5. Para a classificação de nitrogênio uréico no leite: classe 1 – menor que 8 mg/dL; classe 2 – entre 8,1 e 25 mg/dL; classe 3 – acima de 25,1 mg/dL. Já a relação

gordura:proteína foi classificada em 3 classes: classe 1 - menor que 1; classe 2 – entre 1,1 e 1,5; classe 3 – acima de 1,5.

Também foi aplicada aos dados a técnica multivariada de componentes principais através da análise de Biplot (SAS, 2006), considerando-se todos os dados coletados, com exceção de dados utilizados para classificar as amostras para evitar influência nos resultados. Entre os parâmetros excluídos foram: CCS, pH, acidez titulável e estabilidade ao álcool.

4.3 Resultados e Discussão

Quantificação do Fenômeno

De acordo com a regra para escolha das rotas, foram selecionadas 201 propriedades para serem acompanhadas. A Tabela 9 apresenta produção média de leite e número de propriedades escolhidas para a condução do experimento dentro do Estado.

Tabela 9 - Produção média diária e número de propriedades participantes do experimento por Estado

Estado	Propriedades n (%)	Produção Média Diária (L/dia)
Minas Gerais	93 (47)	717,0
Rio de Janeiro	7 (3)	606,0
São Paulo	101 (50)	654,0
TOTAL	201 (100)	

Na Figura 7, pode ser observada a distribuição das propriedades participantes do projeto dentro da região Sudeste.

Figura 7 - Distribuição das propriedades participantes do projeto na Região Sudeste

Como o experimento teve duração de 12 meses, houve variação do número de produtores analisados mensalmente em função da entrega de leite para o laticínio. A classificação das amostras apresentou a distribuição das 2.970 amostras em: 2.004 amostras (67%) como Estável, 267 (9%) como Proteína Instável e 799 (24%) como Instável. Na Tabela 10, estão apresentados os números de amostras analisadas ao longo do experimento, bem como o volume de leite representado pelas mesmas.

Na Tabela 10, também está quantificado o problema relacionado com qualidade de proteína no leite produzido. Diante dos 52 bilhões de litros de leite recebidos pelo laticínio durante o ano experimental, representados pelas 2.970 amostras, 7% estava relacionado com o problema de Proteína Instável. De forma a caracterizar o problema, foi considerado o valor médio pago ao produtor por litro de leite nos meses estudados, de acordo com CEPEA (2006), resultando em R\$ 1,7 milhões relacionados ao leite com Proteína Instável.

Tabela 10 - Número de amostras analisadas e ocorrência de Proteína Instável relacionadas com volume e valor monetário ao longo de um ano

Meses	Amostras	Volume de produção de leite	Volume leite com Proteína Instável		Preço leite	Proteína Instável
	(n)	(mil litros)	(mil litros)	(%)	(R\$/litro)*	(R\$)**
Out/05	230	3.701,8	15,5	0	0,485	7.498,19
Nov/05	224	3.326,2	6,4	0	0,460	2.922,91
Dez/05	167	3.322,0	157,2	5	0,441	69.386,23
Jan/06	195	3.371,0	262,2	8	0,426	111.793,66
Fev/06	311	5.431,0	279,3	5	0,448	125.036,43
Mar/06	247	4.062,6	541,8	13	0,457	247.759,34
Abr/06	296	3.354,9	84,6	3	0,491	41.566,14
Mai/06	269	3.274,4	200,6	6	0,509	102.182,07
Jun/06	232	4.162,2	199,6	5	0,514	102.541,34
Jul/06	275	6.442,7	666,7	10	0,523	348.858,62
Ago/06	295	6.026,9	850,5	14	0,529	449.650,89
Set/06	229	5.587,8	283,7	5	0,529	150.196,60
Total	2970	52.063,4	3.548,0	7		1.759.392,62

*Preço mensal médio pago aos produtores dos Estados de Minas Gerais e São Paulo (CEPEA, 2006)

**Valor Monetário referente ao volume de leite identificado com Proteína Instável.

Diante do diagnóstico de 7% do total de litros recebidos pelo laticínio estar relacionado com Proteína Instável por[em com distribuição variada ao longo do ano. Pode ser observado na Tabela 11 a influência significativa ($P < 0,05$) da época do ano sobre o número de amostras identificadas com Proteína Instável.

Entre as 2.970 amostras analisadas, 267 foram identificadas como Proteína Instável, sendo que 17,8% foram encontradas somente no mês de março de 2006. Porcentagem esta que diferiu dos outros meses do ano, com exceção dos meses de junho a setembro. Fischer et al. (2004), estudando a ocorrência de Proteína Instável ao longo de 12 meses consecutivos, encontraram 1.322 amostras (55,2%) com Proteína Instável num total de 2.396 amostras analisadas utilizando a mesma metodologia de classificação das amostras, porém utilizando álcool na concentração de 76%. No trabalho de Fischer et al. (2004) foram acompanhadas, ao longo de um ano, 200 propriedades leiteiras na região de Panambi, RS, onde encontraram variação ao longo dos meses para a ocorrência de Proteína Instável, relacionando-se principalmente com

os meses de fevereiro e março. No presente estudo, também foi verificado aumento da incidência do problema não só no mês de março, mas também nos meses de junho a setembro. Na Tabela 11, podem ser observadas as variações significativas ($P < 0,05$) sobre a ocorrência da Proteína Instável ao longo dos meses analisados. Este efeito significativo da época do ano pode ser explicado pela relação estreita do manejo nutricional dos animais, influenciado principalmente pelas condições climáticas, disponibilidade de volumoso e restrição alimentar (GONZALEZ et al., 2004).

Além dos fatores climáticos e nutricionais, Ribas et al. (2004) relataram sobre os fatores de ordem econômica que podem interferir sobre a composição do leite e, assim, sobre sua estabilidade térmica. Entre estes fatores econômicos, podem ser citados o preço e a disponibilidade dos insumos envolvidos no setor de alimentação devido à época e local de sua distribuição.

Fischer et al. (2004), assim como Marques (2004), trabalhando com Proteína Instável no Estado de Rio Grande do Sul, relacionaram a ocorrência da Proteína Instável com escassez de alimentos ou baixa disponibilidade de forragem na época de maior ocorrência para a região (final de verão e início do outono).

Tabela 11 - Variação do número de amostras de leite classificadas como Proteína Instável ao longo dos meses

Mês	Total de amostras	Amostras identificadas com Proteína Instável		
	N	N		%
Out/05	230	8	c	3,5
Nov/05	224	7	c	3,1
Dez/05	167	14	bc	8,4
Jan/06	195	13	bc	6,7
Fev/06	311	21	bc	6,8
Mar/06	247	44	a	17,8
Abr/06	296	18	bc	6,1
Mai/06	269	25	bc	9,3
Jun/06	232	27	abc	11,6
Jul/06	275	29	abc	10,5
Ago/06	295	31	abc	10,5
Set/06	229	30	ab	13,1
TOTAL	2.970	267		

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem ($P < 0,05$) significativamente pelo teste de Tukey

A diferença entre a incidência de Proteína Instável do presente estudo (7%), em relação aos estudos realizados na região sul que apresentaram incidência acima de 50% (FISCHER et al., 2004; MARQUES, 2004; ZANELA, 2004) pode ser explicada pela caracterização das propriedades. Sônego et al. (2003) trabalhando na região de Pelotas-RS, relacionaram a incidência de Proteína Instável com grupos de produção, encontrando diminuição conforme aumento da produção diária de leite. Os grupos de produção estudados pelos autores variaram desde abaixo de 20 litros/dia até acima de 500 litros/dia. No presente estudo, foram avaliados os produtores desde abaixo de 180 litros/dia até acima de 1000 litros/dia. Com isso, fica evidente a diferença do perfil das propriedades estudadas nos trabalhos realizados na região sul, para o presente estudo realizado na região sudeste.

Na Tabela 12, pode ser observada a distribuição do número de amostra classificadas como Proteína Instável em relação à produção diária de leite das propriedades. A classificação de cada propriedade por grupo de produção foi mensal, já que algumas propriedades tiveram mudanças na quantidade diária de leite produzido ao longo do ano.

Tabela 12 - Distribuição dos casos de Proteína Instável por grupo de produção de leite

Grupos	Casos de Proteína Instável	Número total de amostras
Grupo 1	60 a	463
Grupo 2	51 a	478
Grupo 3	44 a	476
Grupo 4	37 a	450
Grupo 5	44 a	472
TOTAL	236	2339

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem ($P < 0,05$) significativamente pelo teste de Tukey

Ao contrário do resultado encontrado por Sônego et al. (2003), no presente estudo não houve influência do volume de produção diária sobre a incidência de Proteína Instável. Este fato pode estar associado a estratificação dos produtores, pois Sônego et al. (2003) trabalharam com a maioria das amostras (95%) provenientes de propriedades com produção menor de 200 litros diários com incidência de 63% de amostras com Proteína Instável. No presente estudo, apenas 20% das amostras eram

provenientes de propriedades abaixo de 180 litros diários, apresentando 60 amostras (13%) classificadas como Proteína Instável. Verificando a distribuição dos casos de Proteína Instável dentro dos grupos de produção estabelecidos, neste trabalho não foi encontrada relação entre efeito do grupo de produção diária de leite e ocorrência de Proteína Instável. Sônego et al. (2003) inferiram que os grupos de maior produção tinham melhor alimentação e manejo dos animais, passando a refletir na menor ocorrência de Proteína Instável.

Assim como não foi encontrada relação entre Proteína Instável e grupos de produção de leite, também não se observou relação com outras características das propriedades, como, por exemplo, a localização geográfica em termos de município e de Estado (Figura 8), bem como não houve efeito da logística de coleta do leite.

Figura 8 - Distribuição geográfica das propriedades participantes relacionadas com o problema de Proteína Instável

A rejeição do leite com Proteína Instável por parte da indústria, identificado como leite ácido, sem estar realmente ácido, causa prejuízos para os produtores. Segundo Carbonari et al. (2003), quando o leite é rejeitado pela indústria por ser considerado ácido, grande parte dos produtores não conhece a possibilidade deste leite apresentar Proteína Instável e associam o problema com falta de higiene e acidez pela proliferação bacteriana no leite. Esse fato gera conclusões erradas sobre o problema de instabilidade do leite e pode dificultar sua correção, já que a causa do problema não está sendo corretamente identificada.

No intuito de tentar diagnosticar a ocorrência de Proteína Instável, descartando a hipótese de instabilidade causada por leite ácido, foi avaliada a alteração da composição do leite através da comparação das classificações das amostras (Estável, Proteína Instável e Instável). Na Tabela 13, pode ser observada variação significativa ($P < 0,05$) de alguns componentes nas diferentes classificações das amostras.

Tabela 13 - Comparação da composição do leite normal em relação ao leite com Proteína Instável

	Estável	Proteína Instável	Instável
Grau de Estabilidade ao álcool (%)	82 a	76 b	76 b
Acidez Titulável (°D)	16,6 b	15,6 c	17,8 a
pH	6,63 a	6,64 a	6,54 b
Gordura (%)	3,56	3,62	3,54
Proteína (%)	3,15	3,16	3,16
Lactose (%)	4,44 a	4,40 b	4,43 a
Extrato Seco Desengordurado (%)	8,54 a	8,50 b	8,55 a
Contagem de Células Somáticas (1000cels/mL)	570	564	522
Contagem Bacteriana Total (1000ufc/mL)	84	82	100

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem ($P < 0,05$) significativamente pelo teste de Tukey

No presente estudo, foi encontrada diferença significativa entre as amostras que apresentaram instabilidade (Instável e Proteína Instável) e para as amostras classificadas como Estável apenas quanto ao grau de estabilidade frente a prova do álcool e pH. Para os componentes como lactose e extrato seco desengordurado foi observada diferença significativa ($P < 0,05$) entre as amostras classificadas como Proteína Instável das demais amostras. Apenas no item acidez titulável que todas as classificações das amostras diferiram entre si.

Segundo Fischer et al. (2004), houve mudança na composição do leite com Proteína Instável em relação ao leite estável, apresentando aumento nos teores de gordura e CCS, diminuição dos componentes como proteína bruta e lactose, mas sem alteração para extrato seco desengordurado. Reckziegel et al. (2003) também encontraram alterações, avaliando leite com Proteína Instável em relação ao leite estável, resultando em diminuição nos teores de lactose e extrato seco desengordurado, aumento no teor de gordura e nenhuma variação para proteína bruta. Para Oliveira e Timm (2006), o componente do leite que apresentou maior variabilidade para as amostras classificadas como Proteína Instável foi a gordura, havendo um aumento significativo da média dos teores deste componente do leite estável (3,04%) em relação ao leite com instabilidade da caseína (3,30%). Por outro lado, o leite estável apresentou teores médios de lactose (4,33%) significativamente ($P < 0,01$) mais elevados que a média da lactose do leite com instabilidade da caseína (4,16%).

Nos trabalhos acima citados e também no presente estudo, o teor de lactose sempre apresentou diminuição de sua composição nas amostras classificadas como Proteína Instável. Isto pode ser explicado pelo fato da lactose ser dependente da disponibilidade de seus precursores, no caso, a glicose. Por sua vez, o principal precursor para síntese de glicose é o propionato de origem da fermentação microbiana (SANTOS; FONSECA, 2007). Com isso, pode ser verificada a influência de aspectos relacionados ao manejo nutricional sobre a incidência de Proteína Instável, assim como já discutido por Barros (2001) e Zanela (2004). Não obstante, estes autores relacionaram a incidência do problema principalmente com mudanças bruscas na dieta e subnutrição. Talvez uma possível explicação esteja relacionada com o metabolismo de carboidratos, de acordo com a diminuição do teor de lactose no leite classificado como Proteína Instável.

Repetibilidade do fenômeno

Sendo a ocorrência do fenômeno independente da localização geográfica e do volume de produção, porém, dependente da época do ano, esta fase iniciou-se em fevereiro de 2007 com a recepção das 332 amostras. Destas 332 amostras, apenas 38 apresentaram classificação como Proteína Instável, sendo assim, identificadas as

propriedades para participar desta fase do experimento. Durante as 5 semanas (de 26 de fevereiro a 30 de março de 2007) em que as propriedades foram avaliadas quanto a ocorrência do problema, 10 propriedades não apresentaram nenhuma amostra classificada como Proteína Instável, conforme apresentado na Figura 9. Também na Figura 9 observa-se que nenhuma propriedade apresentou 5 amostras classificadas como Proteína Instável.

Figura 9 - Distribuição das propriedades em função do número de amostras classificadas com Proteína Instável

Além da distribuição das propriedades em função do número de amostras classificadas como Proteína Instável, também foi quantificada a existência de casos consecutivos ao longo do período estudado. Na Figura 10, pode ser observado que nenhuma das propriedades apresentou 4 ou 5 vezes o problema durante o período experimental de 5 semanas.

Figura 10 - Distribuição das propriedades em função da ocorrência consecutiva de Proteína Instável

De acordo com a análise da matriz de correlação (Tabela 14), pode ser observado que não existe relação entre a ocorrência de Proteína Instável ao longo das semanas com as propriedades estudadas, com exceção para a semana 1 com a semana 3 ($P < 0,05$). Assim, o aparecimento e desaparecimento do problema ocorrem de forma espontânea. Este fato já foi observado por Barros (2001), que relatou sobre a falta de soluções concretas para os produtores a fim de evitar perdas econômicas devido à ocorrência espontânea de Proteína Instável.

Tabela 14 - Coeficiente de correlação de Pearson (r) entre as semanas avaliadas para a ocorrência do problema de Proteína Instável

	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5
Semana 1	-	0,287 ns	0,453 *	0,072 ns	0,263 ns
Semana 2		-	0,277 ns	0,121 ns	-0,157 ns
Semana 3			-	0,305 ns	0,258 ns
Semana 4				-	0,100 ns
Semana 5					-

ns: não significativo; * nível de significância de 5%

Análise do Fenômeno

Das 201 propriedades participantes da Fase 1 (quantificação do fenômeno), apenas 144 apresentaram dados completos ao longo dos 12 meses, porque muitas propriedades saíram ou entraram no quadro de clientes do laticínio durante o projeto. Dessa forma, as propriedades restantes foram excluídas do processo de seleção para esta fase.

Assim, a indicação das propriedades para esta fase foi baseada nas 144 propriedades acompanhadas completamente. Sem histórico de Proteína Instável (nenhum caso ao longo dos 12 meses avaliados) foram indicadas 16 propriedades. Com histórico de Proteína Instável (pelo menos 6 amostras com Proteína Instável ao longo dos 12 meses avaliados) foram indicadas 10 propriedades.

A relação das propriedades indicadas foi encaminhada para o laticínio para a obtenção do acesso para as visitas técnicas. O laticínio disponibilizou 6 propriedades de cada grupo, distribuídas nos Estados de São Paulo e Minas Gerais, conforme a Figura 11.

Figura 11 - Distribuição das propriedades participantes da Fase 3 do projeto

Todas as propriedades sem histórico de Proteína Instável continuaram com esta classificação, porém, das 6 propriedades com histórico, apenas 3 apresentaram Proteína Instável no dia da visita, de acordo com a amostra do tanque de expansão.

Este fato pode ser explicado pelo resultado encontrado na Fase 2, onde o aparecimento ou desaparecimento do problema ocorre de forma espontânea.

Caracterização das propriedades

Diante da classificação atual foram feitas as análises da correlação entre características das propriedades com a ocorrência de Proteína Instável. Conforme pode ser observado na Tabela 15, não foi encontrada correlação significativa ($P < 0,05$) para nenhuma das características das propriedades com a ocorrência de Proteína Instável.

Tabela 15 - Coeficiente de Correlação de Pearson e Nível de significância para cada característica das propriedades avaliadas em relação a ocorrência de Proteína Instável

Característica Avaliada (n)	Coeficiente de Correlação	Significância
Raça (12)	-0,174	0,588
Sistema de Produção (12)	-0,174	0,588
Tipo de Pastagem (11)	-0,516	0,103
Tipo de Volumoso (11)	0,559	0,073
Tipo de Gramínea (6)	0,333	0,518
Tipo de Silagem (5)		
Origem do Concentrado (11)	-0,149	0,661
Suplementação Mineral (12)	-0,292	0,355
Sistema de Ordenha (12)	-0,192	0,549

Grupo Genético

Das propriedades estudadas, apenas uma possuía animais do grupo genético Holandês. Na Figura 12 pode ser observada a distribuição das propriedades em função do grupo genético dos animais em lactação.

Figura 12 - Distribuição das propriedades classificadas de acordo com a ocorrência de Proteína Instável em função do grupo genético

Sistema de Produção

Para esta característica, foi considerado o sistema confinado (animais constantemente confinados e dieta completa no cocho) e o sistema a pasto (animais permaneciam em pastejo e dieta completa no cocho). Diante desta classificação, na Figura 13 pode ser observado que apenas uma propriedade apresentou a classificação de sistema confinado. Importante ressaltar que esta propriedade classificada com sistema confinado foi a única que apresentou o grupo genético Holandês.

Figura 13 - Distribuição das propriedades classificadas de acordo com a ocorrência de Proteína Instável em função do tipo de sistema de produção

Foi verificado o aspecto relacionado com a pastagem, se esta era nativa, ou seja, não foram realizadas as etapas de implantação desta na propriedade, ou se esta pastagem foi cultivada. Apenas uma das 11 propriedades, que utilizavam o sistema a pasto, havia cultivado a pastagem (Figura 14).

Figura 14 - Distribuição das propriedades classificadas de acordo com a ocorrência de Proteína Instável em função da pastagem encontrada

Volumoso

Neste item, foi considerado o tipo de volumoso. Para os animais no sistema a pasto foi considerado o volumoso complementar ao pasto (Figura 15). Isto se deve por motivo da época da visita (maio de 2007), quando todos os animais estavam recebendo complementação de volumoso no cocho (antes ou após a ordenha). A classificação do volumoso foi feita no uso de silagem ou gramínea picada no cocho.

Figura 15 - Distribuição das propriedades classificadas de acordo com a ocorrência de Proteína Instável em função do tipo de volumoso oferecido aos animais

Gramínea

Quanto a gramínea utilizada, situação encontrada em apenas 6 propriedades, foram encontradas apenas duas espécies: cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) e capim elefante (*Pennisetum purpureum*), as duas cultivadas na forma de capineira (Figura 16). O manejo desta capineira foi igual em todas as propriedades, em que o corte era feito uma vez ao dia e oferecido picado no cocho duas vezes ao dia.

Figura 16 - Distribuição das propriedades classificadas de acordo com a ocorrência de Proteína Instável em função gramínea oferecida picada aos animais

Tipo de Silagem

Nenhuma das propriedades com Proteína Instável no dia da visita técnica apresentava o oferecimento de volumoso na forma de silagem. Mas a caracterização das propriedades em função do tipo de silagem pode ser vista na Figura 17.

Figura 17 - Distribuição das propriedades classificadas de acordo com a ocorrência de Proteína Instável em função do tipo de silagem oferecida aos animais

Origem do Concentrado

Foram levantados dados referentes a origem do concentrado utilizado na propriedade. Das 12 propriedades, uma não tinha conforme rotina da propriedade o uso de concentrado para os animais em lactação. Assim, as 11 propriedades que ofereciam concentrado aos animais foram distribuídas quanto ao uso de concentrado comercial ou concentrado produzido na propriedade (Figura 18).

Figura 18 - Distribuição das propriedades classificadas de acordo com a ocorrência de Proteína Instável em função da origem do concentrado oferecido aos animais

Quanto a composição do concentrado (comercial ou batido na propriedade), na Figura 19 pode ser observada a distribuição dos ingredientes em função da classificação das propriedades (Estável e Proteína Instável).

Figura 19 - Ingredientes utilizados no concentrado oferecido aos animais nas propriedades classificadas de acordo com a ocorrência de Proteína Instável

Suplementação Mineral

Em 7 das 12 propriedades foi verificado o uso de suplementação mineral dos animais, conforme observado na Figura 20.

Figura 20 - Distribuição das propriedades classificadas de acordo com a ocorrência de Proteína Instável em função da origem do concentrado oferecido aos animais

Sistema de Ordenha

A caracterização dos sistemas de ordenha foi baseada no tipo de equipamento presente nas propriedades (Figura 21). Em todas as propriedades, com exceção da que possui animais da raça Holandesa e todos confinados, a ordenha era feita com bezerro ao pé na maioria dos animais.

Figura 21 - Distribuição das propriedades classificadas de acordo com a ocorrência de Proteína Instável em função do sistema de ordenha utilizado

Qualidade do Leite das propriedades (tanque de expansão)

As características das propriedades, como manejo nutricional e aspectos relacionados a raça dos animais e sistema de ordenha, não apresentaram correlação com a ocorrência dos dados. Na sequência da análise do fenômeno, foram avaliados os aspectos relacionados especificamente à qualidade do leite do tanque de expansão das propriedades participantes.

Durante a visita, foram coletados os dados de volume de leite individual de todos os animais em lactação, e com isso pode ser calculado o volume de leite produzido (com e sem Proteína Instável). Na Tabela 16 são apresentados os resultados de produção de leite acompanhados pela visita.

Tabela 16 - Quantificação de casos e volume de leite identificado com Proteína Instável nas propriedades participantes do projeto

Propriedade (classificação)*	Total de animais em lactação	Amostras com Proteína Instável		Volume de Leite Total	Volume de Leite com Proteína Instável	
	n	n	%	litros	litros	%
1 (Estável)	53	4	8	1297,1	92,8	7
2 (Estável)	17	3	18	167,5	23,3	14
3 (Estável)	36	5	14	336,7	36,9	11
4 (Estável)	43	6	14	808,5	115,0	14
5 (Estável)	19	3	16	246,1	32,7	13
6 (Estável)	23	2	9	297,5	33,8	11
7 (Proteína Instável)	46	12	27	827,5	227,5	26
8 (Estável)	77	13	17	788,8	126,3	16
9 (Estável)	50	5	10	591,7	69,2	12
10 (Estável)	65	2	3	1077,5	20,0	2
11 (Proteína Instável)	33	11	33	443,8	135,0	30
12 (Proteína Instável)	20	6	30	184,0	52,4	29
TOTAL	482	72	15	7.066,7	964,9	14

* classificação das amostras do tanque de expansão (Estável e Proteína Instável).

No intuito de identificar o problema, foi realizada a comparação das porcentagens de amostras e de volume de leite relacionados com Proteína Instável. Foram utilizados os valores de porcentagem devido à alta variação de número de vacas em lactação nas propriedades estudadas (CV=48%). Assim sendo, na Tabela 17 são apresentados os valores médios, apresentando diferença significativa ($P < 0,05$) para os dois quesitos avaliados.

Tabela 17 - Comparação das porcentagens de número de amostras e volume de leite identificados com Proteína Instável para os grupos estudados

Classificação das propriedades	Amostras com Proteína Instável		Volume de Leite com Proteína Instável
	n	%	%
Estável	9	12 b	11 b
Proteína Instável	3	30 a	29 a

a,b – médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes, diferem entre si ($P < 0,05$)

A detecção de leite com Proteína Instável, de acordo com o resultado da diferença mínima significativa calculada através do PROC GLM (SAS, 2006), seria possível quando, no rebanho, 23% dos animais estariam produzindo leite com Proteína Instável. Em termos de volume, a detecção também seria a partir de 23% do tanque de expansão com leite apresentando Proteína Instável (Figuras 22 e 23).

Figura 22 – Distribuição das propriedades em função da porcentagem de animais relacionados com Proteína Instável no leite produzido

Figura 23 – Distribuição das propriedades estudadas em função da porcentagem de leite relacionado com Proteína Instável no tanque de expansão

Dentro dos 3 tipos de classificação das amostras, nenhuma das 12 amostras de tanque analisadas foi classificada como Instável, por isso os resultados foram apenas para as classificações: Estável e Proteína Instável. Na Tabela 18, são apresentados os valores médios relacionados a qualidade do leite divididos em dois grupos (Estável e Proteína Instável).

Tabela 18 - Comparação da composição do leite em função da classificação das amostras de tanque de expansão das 12 propriedades estudadas

	Estável (n=9)	Proteína Instável (n=3)
Grau de Estabilidade ao álcool (%)	81 a	77 b
Acidez Titulável (°D)	18,20 a	15,60 b
pH	6,63	6,65
Gordura (%)	4,03	3,90
Proteína (%)	3,19	3,14
Lactose (%)	4,46	4,44
Extrato Seco Desengordurado (%)	8,52	8,43
Contagem de Células Somáticas (1000cels/mL)	609	650
Contagem Bacteriana Total (1000ufc/mL)	36	20

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem ($P < 0,05$) significativamente pelo teste F

Apesar de apenas ter sido encontrada diferença significativa ($P < 0,05$) para grau de estabilidade ao álcool e acidez titulável, pode ser observada uma similaridade entre os dados para as duas classificações - Fase 1 e Fase atual. No entanto, a significância para a fase atual foi comprometida pelo baixo número de amostras (propriedades = 12).

Qualidade do Leite individual dos animais em lactação

O leite é considerado por Barros (2001), uma importante ferramenta para avaliação da propriedade, principalmente quanto a distúrbios metabólicos-nutricionais. O autor relata sobre alguns fatores metabólico-nutricionais que afetam a composição de leite como: fatores do meio ambiente (nutrição, manejo e sazonais), fatores internos (genético, sanitários, período de lactação) e a relação entre alimentos com metabolismo.

Diante disso, foram estudados os dados referentes às 482 vacas distribuídas nas 12 propriedades avaliadas. Foram classificadas 257 como Estável, 72 como Proteína Instável e 153 como Instável. Os valores médios da qualidade do leite para os grupos classificados são apresentados na Tabela 19.

Tabela 19 - Comparação da composição do leite em função da classificação das amostras individuais dos animais estudados

	Estável	Proteína Instável	Instável
Grau de Estabilidade ao álcool (%)	83 a	74 b	74 b
Acidez Titulável (°D)	17,4 b	15,9 c	19,5 a
pH	6,68 a	6,67 a	6,57 b
Gordura (%)	3,97	3,96	4,03
Proteína (%)	3,21 ab	3,16 b	3,29 a
Relação Gordura:Proteína	1,24	1,26	1,21
Lactose (%)	4,48 a	4,34 b	4,35 b
Extrato Seco Desengordurado (%)	8,52	8,35	8,55
Nitrogênio Uréico no Leite (mg/dL)	16,76	15,96	15,61
Contagem de Células Somáticas (1000cels/mL)	348	280	268

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem ($P < 0,05$) significativamente pelo teste de Tukey

A seguir, foram abordados, individualmente, pontos avaliados pela qualidade do leite referente à ocorrência de Proteína Instável. Para isso, como o objetivo do presente estudo foi a análise do fenômeno para busca de soluções, foram excluídos os dados referentes às amostras de leite classificadas como Instável. Estas amostras apresentaram aspectos já conhecidos que explicam sua instabilidade, como por exemplo a alta CBT, alta CCS e acidez elevada.

Para a análise do fenômeno, foram realizadas as análises de regressão logística para os dados categorizados (produção de leite, estágio de lactação, escore de condição corporal, nitrogênio uréico no leite, relação gordura: proteína). Na Tabela 20 o resultado da regressão logística.

Tabela 20 - Valores da Odds Ratio, Intervalo de Confiança de 95% e probabilidade de ocorrência estimada pelo método de regressão logística multivariada segunda as variáveis categorizadas

	Estimativa	Odds ratio	Intervalo de Confiança	P
Intercepto	0,3011	0,755	0,508 - 1,123	0,7897
Produção de leite	-0,2809	1,385	1,078 - 1,780	0,1654
Estágio de Lactação	0,3257	1,069	0,615 - 1,857	0,0109
Nitrogênio Uréico no Leite	0,0664	0,993	0,646 - 1,525	0,8138
Relação Gordura:Proteína	-0,00745	0,488	0,311 - 0,767	0,9729
Escore de Condição Corporal	-0,7170	0,755	0,508 - 1,123	0,0019

Diante dos resultados, observa-se a chance de ocorrência ($P < 0,05$) da Proteína Instável para as variáveis: Estágio de Lactação e Escore de Condição Corporal. Para o Estágio de Lactação, foi encontrada uma elevação das chances de ocorrer Proteína Instável conforme aumenta o período de lactação, ou seja, o período de lactação possui efeito sobre a estabilidade da proteína. Silva (2003), relatou sobre alteração da estabilidade da proteína, principalmente no início e no final de lactação, com possível explicação para a maior concentração de proteínas no leite, que implica em maior formação do complexo β -lactoalbumina/ κ -caseína. Outro ponto relatado pelo autor, seria que no início e final de lactação, as concentrações de cálcio e fósforo também se apresentam alteradas, podendo gerar desequilíbrio salino no leite produzido.

Na Figura 24 pode ser observada a distribuição dos animais nas categorias de estágio de lactação em função da ocorrência de Proteína Instável.

Figura 24 - Curva de distribuição dos animais em função do estágio de lactação para os grupos avaliados

O escore de condição corporal tem sido proposto como método auxiliar para avaliação do manejo nutricional e reprodutivo de rebanhos leiteiros (HADY et al., 1994). Na Figura 25, pode ser observado o comportamento do escore de condição corporal dos animais nos grupos estudados (Estável e Proteína Instável). Fica evidente a diferença na distribuição dos animais em virtude da ocorrência de Proteína Instável, sendo que os animais acometidos com o problema apresentam maior chance de apresentar condição corporal menor.

Figura 25 - Curva de distribuição dos animais em função do escore de condição corporal para os grupos avaliados

As análises seguintes relacionam os fatores significativos encontrados na análise de regressão logística multivariada com parâmetros de avaliação nutricional através da análise do leite. De acordo com Peres (2001), o monitoramento nutricional do rebanho através da análise do leite é pouco explorado, mas um ótimo indicativo da adequação nutricional.

O teor de gordura do leite é o componente que tem maior amplitude de variação e reflete diretamente a ingestão de fibra na dieta e sua efetividade (PERES, 2001). Não obstante, para a gordura do leite servir de ferramenta de avaliação nutricional, esta deve ser correlacionada com produção de leite e estágio de lactação. De acordo com a análise de regressão logística, não houve significância para produção de leite em relação a ocorrência de Proteína Instável, o que já foi observado para o estágio de lactação. Assim, na Figura 26, é observado o efeito do estágio de lactação sobre o teor de gordura, sem diferença significativa para os grupos estudados. Peres (2001) relatou sobre o aumento do teor de gordura conforme o avanço do estágio de lactação devido principalmente a concentração dos constituintes.

Figura 26 - Valores médios do teor de gordura (%) de acordo com as classes de estágio de lactação para os grupos avaliados

Assim como observado, Peres (2001) verificou o aumento do teor de gordura conforme o avanço do estágio de lactação. O autor ainda discursou sobre a relação de gordura: proteína.

A ocorrência da acidose ruminal está associada a uma indigestão provocada por um manejo alimentar inadequado, devido ao consumo excessivo de carboidratos rapidamente fermentescíveis, e caracterizada por um padrão de fermentação ácida, que pode levar a um quadro agudo de desidratação e morte (GONZALEZ, 2004). A ocorrência de acidose normalmente implica em queda na produção de leite, e também pode levar à alterações na composição do produto. Segundo González (2004), com a queda do pH ruminal, favorece-se o crescimento de bactérias gram-positivas, como *Streptococcus bovis* e *Lactobacillus sp.*, que tendem a manter o meio cada vez mais ácido. Inicialmente ocorre aumento da produção de ácido propiônico seguida da de ácido láctico, com redução de acetato e β -hidroxibutirato. A mudança na proporção molar entre os subprodutos finais do metabolismo ruminal causa um aumento na absorção diferencial dos ácidos graxos que chegam à glândula mamária por via circulatória. Isto induz mudanças no metabolismo animal, onde passa a haver maior deposição de gordura de reserva por efeito da insulina, que também tem seus níveis circulantes

aumentados pela presença de maior quantidade de precursores glicogênicos (ácido propiônico). Com a menor disponibilidade de ácido acético ruminal e a menor disponibilidade de ácidos graxos livres, pela ação da insulina, há redução da disponibilidade de precursores de gordura chegando à glândula mamária, o que pode causar redução no teor de gordura do leite.

A cetose é um distúrbio metabólico, resultado de um desbalanço no metabolismo hepático de carboidratos e gorduras, caracterizado pela elevação na concentração de corpos cetônicos no sangue, leite e urina (NIELSEN; INGVARTSEN, 2004). Tanto a cetose clínica como subclínica, também estão associadas ao aumento na concentração de ácidos graxos não esterificados e à redução na concentração de glicose no sangue. Em linhas gerais, a cetose decorre da mobilização excessiva de tecido adiposo de reserva, via de regra, para atender uma demanda aumentada de energia. Essa lipomobilização excessiva vai contribuir para o aumento dos ácidos graxos circulantes, precursores da gordura do leite, elevando o teor de gordura do produto. O efeito desse processo sobre a gordura do leite será um aumento nos ácidos graxos de cadeia longa, que são provenientes da mobilização do tecido adiposo, e redução na síntese de ácidos graxos de cadeia curta, em função do menor aporte de precursores na glândula mamária. Em casos de lipomobilização severa, o teor de gordura no leite pode aumentar em até 1% (GONZALEZ, 2004).

Na Figura 27, pode ser observado o teor de gordura para os grupos estudados ao longo das classes de estágio de lactação e escore de condição corporal mediano para cada classe. Não foi observado diminuição do escore de condição corporal (mobilização excessiva de tecido adiposo de reserva), relacionado com aumento do teor de gordura no leite produzido.

Figura 27 - Relação entre teor de gordura, classes de estágio de lactação e escore de condição corporal dos grupos avaliados

A Figura 28 apresenta a distribuição dos animais pertencentes aos grupos estudados (Estável e Proteína Instável), dentro da classificação das dietas baseada na relação gordura: proteína (acidogênica - $<1,0$; cetogênica - $>1,5$).

Figura 28 - Distribuição dos animais nas classes de relação gordura:proteína para os grupos avaliados

Diante do exposto relacionado ao teor de gordura no leite, não foi encontrada diferença para os grupos estudados (Estável e Proteína Instável) quanto a efetividade de fibra ou quanto ao uso de dieta acidogênicas (diminuição do teor de gordura) ou cetogênica (aumento do teor de gordura).

Bem mais complexo que o teor de gordura, o teor de nitrogênio uréico monitora a nutrição protéica e de carboidratos de vacas em lactação (PERES, 2001). De acordo com Hutjens (2004), valores médios de nitrogênio uréico no leite de amostras individuais de vacas abaixo de 8 mg/dL refletem deficiências protéicas ou excessos de carboidratos na dieta, limitando a fermentação ruminal, produção de proteína microbiana e desempenho do animal. Já, valor individual de nitrogênio uréico acima de 25 mg/dL é indicativo de perda energética para eliminação de uréia, menor taxa de concepção, deficiência imunológica e desperdício de proteína.

Não foram encontradas relações entre ocorrência de Proteína Instável com o manejo nutricional protéico e de carboidratos em função do teor de nitrogênio uréico no leite. Na Figura 29, são apresentadas as porcentagens de animais para cada grupo em função do teor de nitrogênio uréico no leite.

Figura 29 - Distribuição dos animais nas classes de nitrogênio uréico no leite para os grupos avaliados

Dos aspectos classificatórios (produção de leite, estágio de lactação, escore de condição corporal, relação gordura: proteína e nitrogênio uréico no leite) analisados através da regressão logística multivariada, apenas o estágio de lactação e o escore de condição corporal apresentaram relação com a ocorrência de Proteína Instável. Os animais com maior estágio de lactação e menor escore de condição corporal foram mais relacionados com o problema.

A continuação da análise do fenômeno foi realizada considerando todos os aspectos de qualidade do leite, com exceção dos componentes que geraram as classificações (Estável e Proteína Instável). Assim sendo, foram excluídas as variáveis: pH, acidez titulável, estabilidade a prova do álcool, CCS e CBT.

A Tabela 21 mostra a matriz de correlação resultante da análise de componentes principais, utilizada para análise da ocorrência do problema relacionado com Proteína Instável no leite.

Tabela 21 - Matriz de correlação da análise de componentes principais para o estudo da ocorrência de Proteína Instável

	Fenômeno	Proteína	ESD	Cinzas	Lactose	NUL	Gordura
Fenômeno	1,0000	-0,0791	-0,1785	-0,1083	-0,1752	-0,0702	-0,0438
Proteína		1,0000	0,7710	0,9827	-0,1153	-0,2642	0,3487
ESD			1,0000	0,8720	0,5435	-0,0696	0,2123
Cinzas				1,0000	0,0640	-0,2207	0,3268
Lactose					1,0000	0,2391	-0,1284
NUL						1,0000	0,0626
Gordura							1,0000

ESD – extrato seco desengordurado; NUL – nitrogênio uréico no leite; Fenômeno – ocorrência de Proteína Instável

Para a escolha do número de componentes principais, foi utilizada a Tabela 22, para valor acumulado acima de 75%. Estipulando este valor, foram escolhidos 3 componentes principais (79,04%).

Tabela 22 - Descrição dos autovalores para os componentes principais utilizados na análise da ocorrência de Proteína Instável

Componente	Autovalor	Diferença	Proporção	Acumulado
1	2,982713	1,472086	0,4261	0,4261
2	1,510627	0,471000	0,2158	0,6419
3	1,039628	0,138430	0,1485	0,7904
4	0,901197	0,336608	0,1287	0,9192
5	0,564590	0,563344	0,0807	0,9998
6	0,001245	0,001245	0,0002	1,0000
7	0		0	1,0000

Os 3 componentes principais (CP) foram descritos como: CP1 – abordando as variáveis Proteína, Extrato Seco Desengordurado e Cinzas; CP2 – abrangendo a variável Lactose e CP3 – composto pelas variáveis Gordura e Nitrogênio Uréico. A definição dos componentes principais pode ser observada na Tabela 23.

Tabela 23 - Descrição dos componentes principais utilizados para a análise da ocorrência de Proteína Instável

Variável	Componentes		
	1	2	3
Gordura	0,237529	-0,175187	0,752056
Proteína	0,545104	-0,211180	0,001195
Lactose	0,111239	0,712159	-0,220574
ESD	0,531989	0,277968	-0,140300
Cinza	0,567375	-0,084089	-0,038202
NUL	-0,129601	0,466399	0,583642
Fenômeno	-0,111101	-0,340113	-0,154841

Definido o número e a descrição dos componentes principais, na Figura 30 foi apresentada a distribuição das variáveis estudadas. Todas as variáveis foram relacionadas com o fenômeno, ou seja, com a ocorrência de Proteína Instável.

Figura 30 - Distribuição das variáveis estudadas de acordo com os componentes principais identificados

Dos três componentes principais identificados, o CP1 referente a proteína do leite, extrato seco desengordurado e cinzas é o que mais explica a variação. A nutrição pode afetar a quantidade e/ou porcentagem de proteína no leite. Este potencial de alteração é bem mais restrito que a influência da dieta sobre o teor de gordura. A faixa de alteração do teor de proteína pela dieta pode ser citada entre 0,1 a 0,2 unidades percentuais. Porém, uma das vantagens da tentativa de aumento do teor de proteína no leite através da nutrição, é que este aumento geralmente é acompanhado pelo aumento do volume de produção (SANTOS; FONSECA, 2007). O que de ser levado em consideração para o aumento do teor de proteína é o aumento do consumo de matéria seca e a otimização da produção de proteína microbiana.

O teor de cinzas do leite, de acordo com Santos e Fonseca (2007), é relativamente constante, variando de 0,7 a 0,8%. O extrato seco envolve proteína, cinzas e também lactose. Portanto, uma variável presente no componente CP1, envolvendo variável do componente CP2.

O componente CP2 apresenta somente relação com o teor de lactose (Tabela 28), a qual já foi discutida para a Fase 1, em termos de sua diminuição significativa para as amostras com Proteína Instável. A lactose é o componente do leite com relação direta à nutrição, mais especificamente ao metabolismo de carboidratos da dieta (SANTOS; FONSECA, 2007).

O terceiro componente CP3 é explicado pelas variáveis gordura e nitrogênio uréico no leite, sendo que estas variáveis, no presente estudo, já foram apresentadas sem efeito sobre a ocorrência de Proteína Instável.

O CP1 pode ser caracterizado pela difícil alteração pela nutrição e tendo variáveis que não mostraram relação com o problema. Já o CP3 mostra relação com nutrição, porém sem influência para a ocorrência do problema. Com isso, reforça assim a importância do componente CP2 para explicar a ocorrência de Proteína Instável e sua relação com aspectos nutricionais.

O componente CP2 refere-se a lactose que possui influência da nutrição e ainda apresentou relação com o problema, conforme resultado encontrado na Fase 1 deste experimento. Com isso, a análise do fenômeno fica dirigida para a síntese de lactose.

De acordo com Wattiaux (1996), os carboidratos são a fonte de energia mais importante e os principais precursores de lactose. Os carboidratos da dieta de vacas em lactação sofrem fermentação por microrganismos do rúmen, formando os ácidos graxos voláteis (acético, propiônico e butírico). Dos ácidos graxos voláteis, o propiônico de origem da fermentação microbiana no rúmen é considerado o principal precursor da glicose em ruminantes (SANTOS; FONSECA, 2007).

O suprimento de glicose para a glândula mamária é o fator limitante para a síntese de lactose. Assim sendo, para o presente estudo em que foi observada a relação inversa entre a ocorrência de Proteína Instável e teor de lactose, fica evidente o déficit de glicose para a glândula mamária. Em outros termos, o problema está relacionado com deficiência energética dos animais.

A relação da ocorrência de Proteína Instável com a síntese de lactose também explica o fato do aparecimento/desaparecimento espontâneo do problema. Este fato pode ser explicado de acordo com a disponibilidade do precursor de lactose, ou seja, da glicose. Sendo a glicose originária da digestão de carboidratos na dieta, assim, a Proteína Instável relaciona-se diretamente com dois fatores: baixa ingestão de matéria seca ou baixa ingestão de carboidratos.

A baixa ingestão de matéria seca já foi relacionada com a ocorrência de Proteína Instável por pesquisadores estudando a restrição alimentar de vacas em lactação (MARQUES et al., 2003; ZANELA et al., 2006). Já para a relação da ocorrência de

Proteína Instável com deficiência energética da dieta não foram encontrados trabalhos a respeito.

Ambos os casos, seja por baixo consumo de matéria seca ou por baixo teor energético da dieta, estão relacionados principalmente com o consumo dos animais em lactação. Assim sendo, o consumo está relacionado com a Proteína Instável.

O fato da ocorrência de Proteína Instável estar ligado ao consumo, explica então o resultado da Fase 2, a respeito da repetibilidade do problema. Pois de acordo com Stone (2007), os ruminantes apresentam variação de consumo de matéria seca com alta variação. Assim, esta variação de consumo de matéria seca pode interferir no aporte de glicose para a glândula mamária transformar em lactose, resultando na Proteína Instável.

4.4 Conclusões

A ocorrência do problema Proteína Instável na região Sudeste, foi quantificada em 7% do volume total de leite produzido ao longo de um ano. Não houve influência geográfica, porém, com influência da estação do ano, identificando início do outono e final de inverno como as épocas de maior ocorrência. A relação da ocorrência do problema com a qualidade do leite está na diminuição da estabilidade térmica, sem apresentar acidez elevada, porém, com diminuição do teor de lactose.

A identificação de Proteína Instável demonstra que ao menos 23% dos animais em lactação estão relacionados com o problema, sendo que este problema apresenta relação com animais em estágio de lactação avançado e diminuição do escore de condição corporal.

O entendimento do problema envolve aspectos nutricionais, mais especificamente para o metabolismo de carboidratos, pois os animais acometidos com o problema apresentaram diminuição do teor de lactose no leite, resposta ao déficit de energia na dieta ou ao baixo consumo de matéria seca.

Referências

BALBINOTTI, M.; MARQUES, L.T.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M.E.R.; STUMPF, W.; RECKZIEGEL, F.J.; CARBONARI, C.; VARELA, M. Incidência do leite instável não ácido (LINA) na Região Sul do Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO PAN-AMERICANO

DE QUALIDADE DO LEITE E CONTROLE DA MASTITE, 2. 2002, Ribeirão Preto.
Anais ... Ribeirão Preto: Instituto Fernando Costa, 2002. 1 CD-ROM.

BARCINA, Y.; ZORRAQUINO, M.A.; PEDAUYE, J.; ROS, G.; RINCON, F. Azidiol as a preservative for milk samples. **Anales de Veterinaria de Murcia**, Murcia, v.3, p.65-69, 1987.

BARROS, L. Transtornos metabólicos que afetam a qualidade do leite. In: GONZALEZ, F.H.D.; DÜRR, J.W.; FONTANELLI, R.S. **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: UFRGS, 2001. p. 46-60.

BENTLEY 2000. **Operator's manual**. Chaska: Bentley Instruments, 1995. 77 p.

BRANDÃO, S.C.C. O futuro da qualidade do leite brasileiro. **Indústria de Laticínios**, São Paulo, v. 5, n. 28, p. 68-71, 2000.

BRASIL. Instrução Normativa nº 51, de 20 de setembro de 2002. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite. **Diário Oficial da União**, Brasília, Seção 1, p.13, 21 set. 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes**. Brasília, 1981. v. 2.

CARBONARI, C.; ZANELA, M.B.; MARQUES, L.T.; RECKZIEGEL, F.J.; STUMPF, W.; FISCHER, V. Caracterização das unidades de produção leiteira na bacia leiteira de Pelotas. Parte 3: Conhecimento do LINA. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPEL, 12., 2003, Pelotas. **Anais ...** Pelotas: UFPEL, 2003. 1 CD-ROM.

CENTRO DE ENSAYOS PARA EL CONTROL DE LA CALIDAD DE LÁCTEOS. **Manual de procedimientos técnicos operacionales**. Disponível em:
 <<http://www.exopol.com/general/circulares/142.html>>. Acesso em: 17 out. 2004.

CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA. **Boletim do Leite – Preços ao Produtor**. Disponível em:
 <www.cepea.esalq.usp.br/page.php?id_page=155>. Acesso em: 10 dez. 2006.

COLDEBELLA, A.; MEYER, P.M.; CORASSIN, C.H.; MACHADO, P.F.; CASSOLI, L.D. Determinação do número mínimo de amostras mensais de leite, para pagamento por qualidade. **Revista Higiene Alimentar**, Itapetininga, v. 16, n. 97, p. 50-55, 2002.

DÜRR, J.W. Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do leite: uma oportunidade única. In: DÜRR, J.W.; CARVALHO, M.P.; SANTOS, M.V. **O compromisso com a Qualidade do Leite no Brasil**. Passo Fundo: Editora Passo Fundo, 2004. p. 38-55.

FISCHER, V.; MARQUES, L.T.; ZANELA, M.B.; RIBEIRO, M.E.R.; STUMPF, W.; RODRIGUES, C.M.; SÔNEGO, E.T.; VARELA, M.; GABANA, G. Ocorrência e caracterização do leite instável não ácido (LINA) e sua variação entre os meses na região sul do Rio Grande do Sul. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais ...** Campo Grande, SBZ, 2004. 1 CD-ROM.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. **ANUALPEC 2004**: anuário da pecuária brasileira. São Paulo, 2004. 400 p.

FONSECA, L.F.L. Análise da conjuntura da pecuária leiteira nacional. **Revista CRMV-SP**, São Paulo, n.6, p. 2-5, 1997.

GONZALEZ, F.H.D. Pode o leite refletir o metabolismo da vaca. In: DÜRR, J.W.; CARVALHO, M.P.; SANTOS, M.V. **O compromisso com a qualidade do leite no Brasil**. Passo Fundo: Editora Passo Fundo, 2004. p. 195-209.

GONZALEZ, H.L.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M.E.R.; GOMES, J.F.; STUMPF JR., W.; SILVA, M.A. Avaliação da qualidade do leite na Bacia Leiteira de Pelotas, RS. Efeito dos meses do ano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 6, p. 1531-1543, 2004.

HADY, P.J.; DOMEKO, J.J.; KANEENE, J.B. Frequency and precision of body condition scoring in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, n. 6, p. 1543-1547, 1994.

HUTJENS, M.F. **MUN as a management tool**. Disponível em: <<http://www.livestocktrail.uiuc.edu/dairynet/paperDisplay.cfm?ContentID=233>>. Acesso em: 16 maio 2004.

MARQUES, L.T. **Ocorrência do leite instável não ácido (LINA) e seu efeito sobre a composição química e aspectos físicos**. 2004. 68 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia – Produção Animal) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2004.

MARQUES, L.T.; BALBINOTTI, M.; FISCHER, V.; STUMPF JR, W.; RIBEIRO, M.E.R.; PINO, F.A.B.; ZANELA, C.; BARBOSA, R.S.; SALABERRY, S.R.S.; HAUSEN, L.J.O. Ocorrência do leite instável não ácido (LINA) conforme a porção da ordenha de vacas submetidas à restrição alimentar. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Campo Grande. **Anais ...** Santa Maria: SBZ, 2003. 1 CD-ROM.

NIELSEN, N.I.; INGVARTSEN, K.L. Propylene glycol for dairy cows. A review of the metabolism of propylene glycol and its effects on physiological parameters, feed intake, milk production and risk of ketosis. **Animal Feed Science and Technology**, Davis, v. 115, n. 3/4, p. 191-213, 2004.

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

OLIVEIRA, D.S.; TIMM, C.D. Composição do leite com instabilidade da caseína. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 259-263, 2006.

OLIVEIRA, H.T.V.; REIS, R.B. **Leites anormais**. Disponível em: <www.prodap.com.br>. Acesso em: 30 mar. 2004.

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

PONCE, C.P.; HERNANDEZ, R. Propriedades físicos-químicas do leite e sua associação com transtornos metabólicos e alterações na glândula mamária. In: GONZALEZ, F.H.D.; DÜRR, J.W.; FONTANELLI, R.S. **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: UFRGS, 2001. p. 61-72.

RECKZIEGEL, F.J.; ZANELA, M.B.; MARQUES, L.T.; CARBONARI, C.; MORENO, C.B.; RIBEIRO, M.E.R.; FISCHER, V. Comparação da composição química do leite instável não ácido com o leite normal. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPEL, 12., 2003, Pelotas. **Anais ...** Pelotas, UFPEL, 2003. 1 CD-ROM.

REGULAMENTO DE INSPEÇÃO INDUSTRIAL E SANITÁRIA DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL. 2004. Disponível em: <<http://200.252.165.21/sda/dipoa/riispoa.htm>>. Acesso em: 04 maio 2004.

RIBAS, N.P.; HARTMANN, W.; MONARDES, H.G.; ANDRADE, U.V.C. Sólidos totais no leite em amostras de tanque nos Estados do Paraná, Santa Catarina e São Paulo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 6, p. 2343-2350, 2004. Suplemento 3.

ROSENTHAL, I. **Milk and dairy products: properties and processing**. New York: VHC, 1991. 217 p.

RUAS, J.R.M.; TORRES, C.A.A.; VALADARES FILHO, S.C.; PEREIRA, J.C.; BORGES, L.B.; MARCATTI NETO, A. Effect of protein supplementation at pasture on forage

intake, weight gain and body condition, in Nellore cows. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 3, p. 930-934, 2000.

SANTOS, M.V. Aspectos não microbiológicos afetando a qualidade do leite. In: DÜRR, J.W.; CARVALHO, M.P.; SANTOS, M.V. **O compromisso com a Qualidade do Leite no Brasil**. Passo Fundo: Editora Passo Fundo, 2004. p. 269-283.

_____. **Alterações na estabilidade do leite**. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/mn/redarestecnicos/artigo.asp>>. Acesso em: 11 maio 2005.

SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. **Estratégias para controle de mastite e qualidade do leite**. São Paulo: Editora Manole, 2007. 314 p.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide**: version 9.1. Cary, 2006. 235 p.

SILVA, P.H.F. **Leite UHT**: fatores determinantes para sedimentação e gelificação. 2003. 150 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

SOMACOUNT 300. **Operator's manual**. Chaska: Bentley Instruments, 1995. 112 p.

SONEGO, E.T.; MARQUES, L.T.; ZANELA, M.B.; HAUSEN, L.J.O.; VARELA, M.; STUMPF JR., W.; FISCHER, V. Incidência do leite instável não ácido de acordo com os grupos de produção de leite. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPEL, 12., 2003, Pelotas. **Anais ...** Pelotas, UFPEL, 2003. 1 CD-ROM.

STONE, W.C. **What is acceptable variation in the nutrition program and how can it be managed?**. Disponível em: <http://ag.arizona.edu/ANS/swnmc/papers/2005/Stone_SWNMC%20Proceedings%202005.pdf>. Acesso em 18 jul. 2007.

VIOTTO, W.H.; CUNHA, C.R. Teor de sólidos do leite e rendimento industrial. In: MESQUITA, A.J.; DÜRR, J.W.; COELHO, K.O. **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia: Talento Gráfica e Editora. 2006. p. 241-258.

WATTIAUX, M.A. Energy and protein metabolism. In: THE BABCOCK INSTITUTE FOR INTERNATIONAL DAIRY RESEARCH AND DEVELOPMENT. **Technical dairy guide: nutrition and feeding**. Madison: Babcock Institute, 1996. p. 33-44.

ZAGO, C.A.; MARTINS, T.; ROMA JÚNIOR, L.C.; KANASHIRO, C.Y.; RODRIGUES, A.C.O.; MACHADO, P.F. Estudo da Proteína Instável: efeito do conservante e do armazenamento sobre o pH de amostras de leite. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 13., 2005, Piracicaba. **Anais ...** Piracicaba: ESALQ, 2005. 1 CD-ROM.

ZANELA, M.B. **Caracterização do leite produzido no Rio Grande do Sul, ocorrência e indução do Leite Instável Não Ácido (LINA)**. 2004.170 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2004.

ZANELLA, M.B.; FISCHER, V.; ROCHA, M.E.; BARBOSA, R.S.; MARQUES, L.T.; STUMPF JR., W.; ZANELA, C. Leite Instável não ácido e composição de leite de vacas Jersey sob restrição alimentar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 5, p. 835-840, 2006.

5 MÉTODOS PARA IDENTIFICAÇÃO DE FRAUDES UTILIZADAS PARA AUMENTAR O TEOR DE PROTEÍNA DO LEITE

Resumo

A fraude no leite é um problema que atinge o consumidor pelas mudanças nas características organolépticas do leite e derivados, e a indústria em termos de baixo rendimento de produtos lácteos. O presente trabalho estudou a influência de diferentes tipos de fraude no leite e armazenamento do leite fraudado sobre os componentes do leite, com objetivo de identificar a fraude através de equipamentos automatizados. A fraude do leite foi efetuada com diferentes concentrações de uréia, urina bovina e soro de leite. Foram realizadas análises da composição, características físico-químicas, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total por equipamentos automatizados. Observou-se grande influência da fraude sobre os componentes do leite, principalmente para teores de extrato seco desengordurado, lactose e nitrogênio uréico no leite. Como resultado deste experimento, a detecção da fraude do leite por equipamentos automatizados foi possível com o uso de análise conjunta de alguns componentes. Assim, a identificação da fraude e a busca da qualidade do leite produzido tornam-se os pontos para geração de vantagens para a indústria em termos de rendimento industrial e para o consumidor pela melhor qualidade do produto final.

Palavras-chave: Adulteração; Soro de leite; Ureia; Urina bovina

METHODS FOR IDENTIFICATION OF FRAUD USED TO INCREASE MILK PROTEIN LEVELS

Abstract

The fraud in milk content is a problem that reaches the consumer for the changes in the organoleptic characteristics of both the milk and its derivatives, as well as in the industry in terms of the low income related to the dairy products. The present work has studied the influence of different kinds of fraud in the milk and the storage of the adulterate milk on the milk components with the objective of identifying the fraud through computerized equipment. The fraud of the milk was accomplished with different concentrations of urea, bovine urine and whey protein. Analyses of milk composition, physiochemical characteristics, somatic cells count and total bacterial count have been carried through using some computerized equipments. It has been observed a great influence of the fraud on the milk composition, mainly for the levels of non fat solids, lactose and nitrogen ureic nitrogen in the milk. As the result of this experiment, the detention of the milk adulteration through the computerized equipment was possible due to the use of the joint analysis of some components. Thus, the identification of the fraud and the search for quality of the produced milk become the points for generating

advantages for the industry in terms of industrial income and for the consumer for the best final product quality.

Keywords: Adulteration; Whey protein; Urea; Bovine urine

5.1 Introdução

Com a demanda da população pelo consumo de leite e derivados e a necessidade da indústria em reduzir suas perdas com matéria-prima de má qualidade, tem aumentado a exigência para que o leite tenha elevado padrão de qualidade já na sua origem. Dessa forma, a busca pela qualidade do leite é crescente, em decorrência desses fatores e da implantação de programas de pagamento por qualidade.

Um dos problemas que prejudica a obtenção de um produto de qualidade é a fraude do leite. Este problema prejudica tanto as indústrias, já que os produtos lácteos têm menor rendimento industrial e qualidade inferior, além dos consumidores, prejudicados em termos de qualidade dos produtos e segurança alimentar. Com isso, a autenticidade dos alimentos tornou-se mais um objetivo a ser alcançado. Por isso, é cada vez mais importante detectar a introdução no mercado de produtos fraudulentamente rotulados e de qualidade inferior, quer por razões econômicas, quer por razões de saúde pública (VELOSO et al., 2002).

Fraude é a adição ou subtração parcial ou total de qualquer substância na composição original do produto. A fraude pode ser caracterizada tanto pela adição de uma matéria qualquer que não exista no produto, como pela subtração de um dos elementos, em condições que o produto perca suas características normais.

A fraude no leite desrespeita os artigos 6º e 31º do Código de Defesa do Consumidor (BRASIL, 1990), que tratam da exigência de informações sobre a quantidade e qualidade do produto. Torna-se também um problema para os órgãos de fiscalização, uma vez que esta fraude não é facilmente detectada através de análises de rotina, requerendo análises mais complexas e custosas (SOARES et al., 2006).

As fraudes mais generalizadas são: a adição de água ao leite, desnatado parcial ou adição de leite desnatado e, ainda, a combinação destes dois tipos (BEHMER, 1999). Inicialmente a motivação para a fraude era relacionada com o aumento de volume do leite (OLIVEIRA, 2006), mas atualmente as adulterações visam alterar as

características e os componentes do leite, para receber bonificações (lucro ilícito) em sistemas de pagamento por qualidade.

Nesta categoria, pode-se considerar a adição de urina, uréia e soro de leite, que são substâncias facilmente obtidas pelos produtores. O soro é um excedente da produção de queijos, a urina, facilmente coletada dos animais e a uréia, comumente encontrada nas propriedades por ser utilizada diretamente na dieta de bovinos.

O soro de leite é o produto de fraude mais generalizado (IDEC, 2003) e tem sido pesquisado há vários anos, tanto em leite fluido quanto em leite em pó. É um produto bastante interessante para a indústria por, entre outros aspectos, conter proteínas de alto valor (soroproteínas) além da quase totalidade dos sais minerais e lactose que o originou (WOLFSCHOON-POMBO; FURTADO, 1977). Além disso, possui baixo valor comercial, reduzido aproveitamento em derivados e subprodutos lácteos e do alto custo para o seu descarte (SOARES et al., 2006). No Brasil, o volume estimado de queijo produzido em 2004 foi de 510 mil toneladas e 4,3 milhões de toneladas de soro, segundo a ABIQ (2006), citado por Soares et al. (2006).

Não existem relatos em literatura com relação a fraudes no teor de proteína do leite utilizando uréia, porém, muitos laticínios já possuem conhecimento desta adulteração. Produtos a base de uréia, incluindo a urina, tornam-se importantes substâncias de fraude do leite, pois o incremento na concentração de nitrogênio pode causar o aumento do teor de proteína detectável no leite gerando incremento no valor pago ao produtor em sistemas de pagamento por qualidade.

Com este cenário, as indústrias de laticínios e as entidades responsáveis por assegurar a autenticidade do leite necessitam ter à disposição ferramentas que possam dar respostas precisas em tempo real, ao longo das várias etapas de fabricação e comercialização dos produtos, minimizando os custos decorrentes de qualquer anomalia que possa surgir (VELOSO et al., 2002). Além disso, em virtude da nova legislação brasileira de qualidade do leite e do pagamento diferenciado pela indústria, a demanda dos produtores brasileiros por análises de leite é crescente.

Desta forma, para garantir a qualidade do leite e o desenvolvimento do setor, é necessário existir ferramentas rápidas e precisas de análise do leite em tempo real capazes de identificar sua adulteração. A introdução de analisadores automáticos de

leite tem permitido o desenvolvimento de laboratórios que realizam essas análises, visando melhorar o manejo do rebanho e viabilizar sistemas de pagamento do leite por qualidade com a vantagem, em muitos casos, de ter maior rapidez e acurácia na análise dos componentes do leite (MONARDES et al., 1996).

Além disso, em virtude da nova legislação brasileira de qualidade do leite e do pagamento diferenciado pela indústria, a demanda dos produtores brasileiros por análises de leite é crescente.

O presente trabalho teve como objetivo validar o uso de equipamentos automatizados para detecção de fraudes do teor de proteína do leite com soro de leite, urina bovina e uréia.

5.2 Material e Métodos

Foram utilizados 30 litros de leite, provenientes do Centro de Treinamento do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, divididos nos três tratamentos escolhidos. Os tratamentos foram definidos de acordo com fraudes verificadas a campo: uréia, urina bovina e soro de leite (Figura 31).

Figura 31 - Produtos utilizados no processo de fraude do leite (A- Soro de leite; B - Urina Bovina); C – Uréia Pecuária)

A uréia utilizada foi adquirida na forma de grânulos, com pureza certificada de 99,5%, diluída em água destilada para uma concentração final de 50% de nitrogênio (500 g de uréia em 1000 ml de água destilada), já que este valor é próximo do encontrado na uréia pecuária (45%).

A urina bovina foi coletada aleatoriamente de vacas em lactação do Centro de Treinamento em Zootecnia (ESALQ/USP), com valor médio de 2,032% de nitrogênio, determinado pelo método de Kjeldahl e pH de 7,32.

Foi utilizado soro de leite em pó comercial parcialmente desmineralizado, para evitar possíveis interferências da utilização de soro obtido da produção de queijo. De acordo com as especificações do produto, o teor mínimo de proteína é de 10%. Foi diluído em água destilada conforme as instruções do fabricante (na proporção de 12g de soro em pó em 188 ml de água) no momento do uso. Os tratamentos estão detalhados na Tabela 24.

Tabela 24 - Descrição dos tratamentos do experimento

Tratamento	Descrição
Controle	Leite <i>in natura</i>
LSL25	Leite com adição de 2,5% de soro de leite
LSL50	Leite com adição de 5,0% de soro de leite
LSL75	Leite com adição de 7,5% de soro de leite
LUB25	Leite com adição de 2,5% de urina bovina
LUB50	Leite com adição de 5,0% de urina bovina
LUB75	Leite com adição de 7,5% de urina bovina
LU25	Leite com adição de 2,5% de uréia
LU50	Leite com adição de 5,0% de uréia
LU75	Leite com adição de 7,5% de uréia

O total de 30 litros de leite coletados foi dividido entre os 10 tratamentos, restando 3 L de leite por tratamento. Na concentração de 2,5% utilizou-se 2,925 L de leite adicionado de 75 ml do produto de fraude; na concentração de 5,0%, 2,850 l de leite e 150 ml do produto e por fim na concentração de 7,5%, 2,775 L de leite e 255 ml do produto. Após a adição do produto de fraude, o leite foi homogeneizado durante a preparação dos frascos de amostras.

Para cada tratamento foram preparados 10 frascos do leite (50mL) com conservante Bronopol[®], para as análises de composição, contagem de células

somáticas (CCS), nitrogênio uréico no leite (NUL), pH, acidez titulável, e prova do álcool e 10 frascos estéreis (50mL) com conservante Azidiol (BARCINA et al., 1987) para realizar a contagem bacteriana total.

Após o preparo, as amostras foram armazenadas sob refrigeração a 7°C, até as análises em: 1, 3 e 5 dias após o preparo das amostras.

Para a análise do leite foram utilizados os equipamentos do laboratório da Clínica do Leite/ESALQ/USP (Figura 32). As análises de composição do leite (proteína bruta, gordura, lactose, sólidos totais) foram executadas eletronicamente por absorção infravermelha no equipamento Bentley 2000® e o teor de nitrogênio uréico do leite (NUL) (mg/dL) foi analisado pelo equipamento Bentley ChemSpeck 150®. Já a contagem de células somáticas (CCS) do leite foi realizada através do equipamento Bentley Somacount 500® e a contagem bacteriana total (CBT) pelo equipamento Bentley Bactocout IBC®, ambas as contagens através da técnica de citometria de fluxo.

Figura 32 - Equipamentos automáticos para análise de leite - Clínica do Leite - ESALQ/USP

Para as análises de composição, CCS e NUL, colocou-se um frasco com o detergente RBS, que é neutro, entre cada tratamento, para evitar possíveis interferências e assim garantir um resultado mais preciso.

As amostras do tratamento uréia, nas proporções de 5 e 7,5% foram diluídas em água destilada para a análise de NUL, na concentração de 50% e 25% (volume de leite/volume de água), respectivamente, já que a concentração de nitrogênio foi muito alta e ultrapassou o limite de detecção do equipamento. Os resultados posteriormente foram convertidos em valores normais.

O teor de extrato seco desengordurado foi calculado como: teor de sólidos totais no leite (%) – teor de gordura (%), para cada amostra.

As características físico-químicas do leite - pH e acidez titulável - foram determinadas de acordo com a metodologia descrita por Pereira et al. (2001) utilizando potenciômetro digital da Marca QUIMIS, modelo Q799 (Figura 33).

Figura 33 - Potenciômetro digital utilizado para aferição do pH e acidez titulável das amostras do experimento

Cada tratamento, incluindo o controle, apresentou 10 repetições por análise realizada. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e a análise

estatística realizada através do procedimento MIXED para as variáveis numéricas pelo programa SAS 9.0. Todos os testes foram analisados para a significância de 5%.

Figura 34 - Fluxograma do preparo dos tratamentos e das análises realizadas no experimento

5.3 Resultados e Discussão

Soro de leite

Para o estudo sobre a fraude de soro, foram realizadas as análises envolvendo os efeitos principais (armazenamento e dose) bem como as interações possíveis (armazenamento x dose). Para todas as variáveis avaliadas, apenas a gordura não sofreu nenhuma interferência quanto à quantidade de soro adicionado, nem quanto ao efeito do período de armazenamento. A média geral para gordura foi de 3,70%.

Meyer (2003) constatou uma diminuição no teor de gordura para o leite cru refrigerado a 4°C: 3,31 (dia 0), 3,29 (dia 3) e 3,26 (dia 6). Almeida et al. (2001) avaliaram as características físicas e químicas de bebidas lácteas preparadas com 30, 40 e 50% de soro de queijo Minas Frescal, com dois tipos de culturas lácteas, e constataram que houve diferença estatística no tempo zero para os teores de gordura e extrato seco. Além disso, na medida em que se elevou a proporção de soro em relação ao leite, os teores de gordura e de extrato seco diminuíram.

A possível explicação para a não alteração do teor de gordura está nas concentrações de soro adicionadas ao leite, variando de 2,5 a 7,5%. Estes valores apresentam-se inferiores ao trabalho de Almeida et al. (2001), que encontrou influência do soro no teor de gordura.

Algumas variáveis como CBT, ESD, NUL e acidez titulável apresentaram efeito do dia de análise, ou seja, sobre influência do período de armazenamento, conforme mostrado na Tabela 25. A CBT mostrou variação ao longo dos dias, porém esta variação apresentou-se dentro dos limites aceitáveis da Instrução Normativa 51 (BRASIL, 2002), ou seja, abaixo de 1×10^6 ufc/mL. A CBT também se mostrou dentro dos valores médios de CBT apresentados pelos laboratórios da Rede Brasileira de Qualidade do Leite (MESQUITA et al., 2006; SOUZA et al., 2006; DÜRR et al., 2006; MACHADO; CASSOLI, 2006).

Tabela 25 - Médias e desvios-padrão das variáveis para os dias de análise das amostras adicionadas com soro de leite

VARIÁVEL AVALIADA	Tempo de Armazenamento (dias)		
	1	3	5
Contagem Bacteriana Total (1000ufc/mL)	152 ±45,00 a	61±2,00 c	86±1,00 b
Extrato Seco Desengordurado (%)	8,01±0,01 ab	7,93±0,07 b	8,06±0,01 a
Nitrogênio Uréico no Leite (mg/dL)	12,49±0,03 c	12,71±0,04 b	13,38±0,04 a
Acidez Titulável (°D)	14,69±0,10 c	15,18±0,09 b	15,63±0,10 a

Médias seguidas por letra diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

Foi observada variação significativa para os valores de ESD, porém esta foi de apenas 0,1 ponto percentual. Fato importante está relacionado na comparação dos valores de ESD com os limites aceitáveis perante a Instrução Normativa 51 (BRASIL, 2002). Desde o primeiro dia de análise os valores já se encontravam abaixo do valor mínimo de 8,4% exigido pela legislação.

Outra variável com significativa oscilação foi o NUL, que mostrou correlação positiva com o tempo de armazenamento. Mas mesmo com esta oscilação, todos os valores encontraram-se dentro dos limites aceitáveis para amostras de leite de tanques refrigeradores. Estes limites aceitáveis, de acordo com Machado e Cassoli (2006), foram descritos entre 10 e 14 mg/dL. Meyer (2003) também observou uma variação no NUL de 5,66, no dia zero, para 5,99 e 5,77mg/dL, nos dias 3 e 6, respectivamente, para

amostras refrigeradas. O teor mais elevado no terceiro dia de análise em relação aos demais dias pode ter sido causado, segundo a autora, por algum problema no equipamento no momento da análise. No presente experimento o aumento pode ser explicado pelo tempo de armazenamento das amostras, uma vez que todas as amostras foram armazenadas de maneira idêntica.

Provavelmente, o acréscimo do teor de nitrogênio não foi proveniente de degradação de proteínas em compostos secundários pelas bactérias, já que o teor de proteínas no leite não diminuiu. Almeida et al. (2006) também constataram que o tempo de armazenamento não teve efeito sobre a proteólise do leite refrigerado e armazenado em tanques de expansão.

Quanto a acidez titulável, seguindo o comportamento do NUL, apresentou correlação positiva conforme o avanço do tempo de armazenamento das amostras até o momento das análises. Todos os valores, independente dos dias da análise, foram inseridos dentro do limite aceitável pela Instrução Normativa 51 (BRASIL, 2002), ou seja, entre os valores de 14 e 17°D.

Com relação ao efeito do tratamento, ou seja, das doses de soro de leite adicionadas ao leite cru, foram encontradas respostas para as variáveis CBT, ESD e NUL, conforme demonstrado na Tabela 26. Tanto para CBT, quanto para NUL, houve diferença significativa entre cada tratamento. Já para o ESD só foi apresentada diferença entre o controle e o tratamento com 7,5% de soro de leite.

Tabela 26 - Médias e desvios-padrão das variáveis para as diferentes doses de soro de leite adicionadas às amostras

VARIÁVEL AVALIADA			Tratamento (% de soro de leite)			
			0	2,5	5,0	7,5
Contagem Bacteriana	Total					
(1000ufc/mL)			30±30,00 d	80±30,00 c	149±30,00 b	203±30,00 a
Extrato Seco Desengordurado (%)			8,12±0,05 a	7,99±0,05 ab	7,99±0,05 ab	7,91±0,05 b
Nitrogênio Uréico no Leite (mg/dL)			13,26±0,05 a	13,01±0,05 b	12,75±0,05 c	12,41±0,05 d

Médias seguidas por letra diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

No que diz respeito aos valores das variáveis que apresentaram efeito do tratamento, a CBT foi a única que se apresentou dentro dos padrões aceitáveis pela legislação para amostras de leite de tanques refrigerados. Para a legislação, de acordo

com Brasil (2002), o limite máximo de unidades formadoras de colônia por mililitro de leite é de 1×10^6 . No presente estudo, a diferença entre o tratamento controle (0% de adição de soro de leite) e o tratamento 7,5% de adição de soro foi de 173.000 ufc/ml, isso equivale a um aumento quase 7 vezes o valor da carga bacteriana inicial do leite. Mesmo com o uso de água destilada no preparo do soro de leite, com o acondicionamento das amostras sobre refrigeração e a preservação com o conservante bacteriostático foi observado aumento significativo da CBT conforme o incremento de soro ao leite. Uma possível explicação pode ser apresentada através do aumento de substrato para ao crescimento bacteriano, através da adição de produto com alta concentração de lactose. No entanto, nem com este aumento, é possível identificar a fraude por soro de leite através da realização somente da CBT. Outro ponto é que mesmo este valor do tratamento 7,5% está dentro da variação normal de CBT do leite produzido no Brasil, de acordo com Dürr et al. (2006).

Quanto ao ESD, já é possível observar que o controle encontrava-se abaixo do limite mínimo exigido pela legislação, que é de 8,4% (BRASIL, 2002). Em continuação ao efeito, todos os tratamentos tiveram queda acentuada do teor conforme aumento da dose de soro de leite, atingindo no tratamento 7,5% uma diferença significativa de até 0,2 pontos percentuais. Esta depreciação do valor condiz com uma queda de 3% no valor do ESD para cada 7,5% de soro de leite como agente de fraude no leite.

Foi encontrada queda significativa no valor de NUL conforme o aumento da dose de fraude com soro de leite. Este componente não é exigido pela legislação em vigor para atestar sobre a qualidade do leite, porém de acordo com Machado e Cassoli (2006), este componente deve estar na faixa de 10 a 14 mg/dL para amostras de leite provenientes de tanques. Assim, para o presente estudo, todos os tratamentos estavam inseridos dentro dos padrões aceitáveis, impossibilitando a detecção da fraude por esta análise somente.

Para as variáveis proteína, lactose, CCS e pH foi encontrada interação entre o dia de análise e a dose de soro adicionada ao leite. As interações foram elucidadas pelas Figuras 35, 36, 37 e 38.

O teor de proteína apresentou diminuição de acordo com o aumento de soro aplicado no tratamento (Figura 35), corroborando com Almeida et al. (2001). Para

qualquer tratamento, os valores encontrados estavam inseridos dentro dos limites aceitáveis pela legislação (BRASIL, 2002) como também dentro da variação do componente para tanques de expansão ao longo de um ano (SOUZA et al., 2006). Talvez a análise somente do teor de proteína não detecte a fraude por soro de leite, mas ao invés de surgir bonificação para o produtor, este pode ser prejudicado se estiver fazendo parte de um programa de pagamento por qualidade. De acordo com Álvares (2005) o pagamento por qualidade pode ser considerado boa ferramenta para a indústria, principalmente se esta está valorizando sólidos, principalmente o teor protéico.

Segundo Furtado (1989), a adição de soro de queijo diminui o teor de caseína do leite e aumenta as soroproteínas, podendo influenciar na leitura pelo equipamento. Souza et al. (2000) testaram a análise eletroforética (SDS-PAGE) para detectar a adulteração de leite em pó com soro de leite em pó, na proporção de 0 a 100%, e verificaram que os picos de caseína diminuíram enquanto os picos de β -lactoglobulina e α -lactoalbumina aumentaram com a maior substituição de leite em pó por soro de leite em pó. Constataram ainda que este método mostrou uma sensibilidade de 5% de soro adicional.

Figura 35 - Distribuição dos resultados de proteína do leite para as diferentes doses de soro de leite nos diferentes tempos de armazenamento

No que diz respeito aos sólidos totais, ou mesmo quando se utiliza o extrato seco desengordurado, grande parte deste é composto por proteína e também pela lactose. A lactose no experimento apresentou interação significativa, conforme observado na Figura 36. Porém, todos os tratamentos estão inseridos dentro da variação normal do componente (DÜRR et al., 2006). O teor de lactose foi maior com a adição de soro, pois como relatou Silva et al. (2002) o teor médio de lactose no leite é de 4,61%, enquanto que o soro, segundo Araújo (2001), contém aproximadamente 5% de lactose. Houve um aumento neste teor no 6º dia de armazenamento, com diferença significativa entre todos os tratamentos. Para o leite cru *in natura*, Meyer (2003) observou um efeito oposto, com um aumento no 3º dia e um decréscimo no 5º dia. Almeida et al. (2001) não relataram diferenças no teor de lactose nas diferentes concentrações de soro em bebidas lácteas.

Figura 36 - Distribuição dos resultados de lactose para as diferentes doses de soro de leite nos diferentes tempos de armazenamento

Quanto ao aspecto de sanidade, a CCS também interação entre o dia de análise e a dose de soro de leite adicionada ao leite. Pode ser observado na Figura 37 que os valores de CCS, mesmo com a interação, foram decrescentes ao longo dos dias de análise. Este fato já foi observado por Monardes (1996) que relatou sobre a deterioração das células somáticas como resposta do armazenamento, principalmente quando na ausência de resfriamento das amostras.

Figura 37 - Distribuição da contagem de células somáticas para as diferentes doses de soro de leite nos diferentes tempos de armazenamento

A característica físico-química do leite que apresentou interação significativa foi o pH, com queda em seu valor, principalmente entre os resultados das análises do dia 1 e 3. Mas mesmo com esta queda, não foram observados valores discrepantes com a faixa de variação normal para pH de amostras de leite que é citada por Gonzalez (2001) como sendo entre 6,60 e 6,90. O comportamento do parâmetro pH pode ser observado na Figura 38.

Figura 38 - Distribuição dos resultados de pH das amostras de leite para as diferentes doses de soro de leite nos diferentes tempos de armazenamento

A detecção da fraude por soro de leite para as doses estudadas, de acordo com os resultados do presente experimento, seria possível com a combinação de análises de composição e físico-químicas. Sendo que um indicativo de que a amostra deveria ser analisada em todos os aspectos, seria com a queda no teor de extrato seco desengordurado, conforme demonstrado na Tabela 26. A adição de soro ao leite pasteurizado (em proporções de 0 a 50%) promoveu um decréscimo em todos os parâmetros avaliados (índice crioscópico, densidade, gordura, acidez e sólidos totais), no experimento de Soares et al. (2006), o que era esperado, uma vez que, todos os índices de composição eram menores no soro de queijo. Esta redução foi proporcional à quantidade de soro adicionada, corroborando com este experimento. Comportamento similar também foi observado por Soares et al. (2005), para leite cru adicionado de soro.

Soares et al. (2006) em testes de detecção de soro de leite adicionado em leite pasteurizado concluíram que as variações isoladas nos índices avaliados podem estar relacionadas a outras irregularidades no leite e que isto impossibilita a detecção da fraude por adição de soro. No entanto, a análise destes componentes em conjunto, possibilita a identificação da fraude no leite, como o conjunto de provas realizadas pelo presente estudo.

Urina Bovina

Na análise da fraude por urina bovina, foram observados os efeitos do armazenamento, do tratamento e da interação armazenamento com tratamento. O efeito significativo do armazenamento foi observado para as variáveis CBT, CCS, NUL e acidez titulável, conforme demonstrado na Tabela 27.

Tabela 27 - Médias e desvios-padrão das variáveis para os dias de análise das amostras preparadas com adição de urina bovina

VARIÁVEL AVALIADA	Tempo de Armazenamento (dias)		
	1	3	5
Contagem Bacteriana Total (1000ufc/mL)	39 ±12,00 a	21±2,00 b	28±1,00 b
Contagem de Células Somáticas (1000célis/mL)	585±0,01 a	555±0,07 a	523±0,01 b
Nitrogênio Uréico no Leite (mg/dL)	17,25±0,30 c	17,61±0,50 b	18,37±0,50 a
Acidez Titulável (°D)	13,32±0,10 b	13,83±0,10 a	13,98±0,10 a

Médias seguidas por letra diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

A CBT apresentou variação ao longo dos dias de armazenamento, porém mesmo com esta variação significativa, os valores para todos os dias encontraram-se excessivamente abaixo do valor máximo permitido pela legislação que é de 1×10^6 ufc/mL. O valor encontrado, independentemente do dia de análise (armazenamento), apresentou-se excessivamente abaixo ao valor médio de CBT de amostras de tanques de expansão na região Sul de acordo com Dürr et al. (2006), com média de 970×10^3 ufc/mL e de acordo com Machado e Cassoli (2006) com média de 462×10^3 ufc/mL.

No que diz respeito a CCS, esta se mostrou com diferença significativa somente para os dias 1 e 3 em comparação com as análises realizadas no dia 5. Os valores de CCS encontrados estão inseridos dentro do limite aceitável pela Instrução Normativa 51 (BRASIL, 2002) que comenta que o limite máximo permitido para contagem de células somáticas é de 1×10^6 céls/mL. Os valores médios para CCS nos dias de armazenamento estão de acordo com a média de CCS nas amostras de tanque de expansão da região Sudeste, conforme apresentado por Machado e Cassoli (2006). Os autores apresentaram o valor médio de CCS como sendo de 496×10^3 céls/mL.

Para o NUL foi observada elevação do valor conforme o aumento do tempo de armazenamento, sendo que no primeiro dia, após a realização da fraude com urina, o valor médio para todos os tratamentos foi de 17,25 mg/dL e com 5 dias após, o valor foi de 18,37 mg/dL. De acordo com Machado e Cassoli (2006), o valor médio de NUL dos tanques de expansão da região Sudeste foi de 7,96 mg/dL. Assim sendo, os valores do experimento encontraram-se acima da média. Outro ponto importante é que o valor referência de acordo com Machado e Cassoli (2006), para o teor de NUL varia entre 10 e 14 mg/dL para amostras de tanque de expansão.

Outra variável estudada que apresentou efeito do tempo de armazenamento foi a acidez titulável, que aumentou conforme o aumento do tempo de armazenamento das amostras. As médias dos valores por dia de análise apresentaram-se abaixo do valor de referência da Instrução Normativa 51 (BRASIL, 2002), que relata como faixa aceitável de acidez titulável entre 14 e 17°D. Mesmo com o aumento em função do tempo de armazenamento, não foi possível encontrar a média dentro dos padrões aceitáveis pela legislação.

Foi observado efeito significativo do tratamento (dose de urina adicionada ao leite) para as variáveis NUL, CCS e acidez titulável. A Tabela 28 mostra os valores médios das variáveis para cada dose de urina adicionada. Mesmo considerando que a urina como fonte de contaminação, esta não resultou em aumento da CBT das amostras de leite dos tratamentos com fraude.

Tabela 28 - Médias e desvios-padrão das variáveis para as diferentes doses de urina bovina adicionadas às amostras

VARIÁVEL AVALIADA	Tratamento (% de soro de leite)			
	0	2,5	5,0	7,5
Nitrogênio Uréico no leite (mg/dL)	13,26±0,06 d	16,22±0,06 c	19,24±0,06 b	22,24±0,06 a
Contagem de Células somáticas (1000cél/s/mL)	607±8,00 a	626±8,00 a	557±8,00 a	404±8,00 b
Acidez Titulável (°D)	15,23±0,13 a	14,13±0,13 b	13,20±0,13 c	12,27±0,13 d

Médias seguidas por letra diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

O aumento do NUL foi significativo conforme o aumento da dose de urina. Desde a menor dose de urina (2,5%) foi observado aumento no teor de NUL de 22%, atingindo na maior dose estudada (7,5%) um aumento de até 68% do valor do tratamento controle. Todos os tratamentos diferiram entre si com significância de 5%. Importante ressaltar que desde a primeira dose estudada (2,5%) o valor médio encontrou-se além da faixa ideal de NUL (10 a 14 mg/dL) para amostras de tanque de expansão citado por Machado e Cassoli (2006).

A CCS apresentou variação apenas do tratamento 7,5% de urina para os demais. Porém, mesmo com esta variação, nenhum tratamento apresentou-se discrepante do padrão proposto pela Instrução Normativa 51 que é de 1×10^6 céls/mL (BRASIL, 2002). Uma possível explicação desta queda seria a diluição do leite com a urina, pois pode ser observada uma queda não significativa entre os três primeiros tratamentos (0, 2,5 e 5,0%), só sendo significativa a partir de 7,5%.

Com relação a acidez titulável, os valores médios apresentaram redução significativa entre cada tratamento, iniciando com 15°D (tratamento controle) até 12°D (tratamento 7,5%). Sendo que, a partir do tratamento 5,0% já seria possível indicar algum problema com a amostra, pois de acordo com a Instrução Normativa 51 a faixa

aceitável seria de 14 a 17°D (BRASIL, 2002). Porém a acidez titulável isolada não seria um bom teste para identificar a fraude, pois outros fatores como raça, armazenamento, nutrição podem interferir no valor deste componente do leite, conforme citado por Peres (2001). Assim sendo, a acidez titulável poderia ser considerado um indicativo de que a amostra deveria ser submetida a outras análises para identificar uma possível fraude com urina bovina no tanque de expansão.

No estudo das interações entre as doses de urina e o dia de análise (tempo de armazenamento), foram encontrados resultados para as variáveis proteína, gordura, ESD, lactose e pH. Estes resultados podem ser vistos nas Figuras 39, 40, 41, 42 e 43.

O teor de proteína do leite comportou-se de forma que o tratamento controle sempre estivesse com valor significativamente acima dos demais tratamentos. Esta diferença significativa entre o controle e os demais tratamentos, para todos os dias de análise, foi bem discreta variando de 0,04 (para o tratamento 2,5%) até 0,07 pontos percentuais (para o tratamento 7,5%). De qualquer forma, tanto para o armazenamento, quanto para o tratamento, todos os valores encontravam-se dentro da variação normal do teor de proteína do leite, conforme citado por Souza et al. (2006) e Dürr et al. (2006). Os valores também estão de acordo com o padrão mínimo exigido pela Instrução Normativa 51 que tem como parâmetro o valor mínimo de 2,9% de proteína (BRASIL, 2002).

Figura 39 - Distribuição dos resultados de proteína do leite para as diferentes doses de urina bovina nos diferentes tempos de armazenamento

Já os valores médios de gordura apresentaram comportamento diferente em relação aos valores de proteína. O tratamento controle e 2,5% de urina diferiram dos demais tratamentos, sendo que o tratamento 7,5% diferiu de todos os outros. Esta diferenciação entre os tratamentos, pode ser observada na Figura 40, como uma depreciação do valor do componente de até 0,5 pontos percentuais.

Figura 40 - Distribuição dos resultados de gordura do leite para as diferentes doses de urina bovina nos diferentes tempos de armazenamento

A adição de urina bovina no leite causou depressão no valor de extrato seco desengordurado de forma drástica, conforme mostrado na Figura 41. O tratamento controle, para todos os dias em relação a todos os outros tratamentos, apresentou o maior valor ($P < 0,05$) de ESD porém abaixo do limite mínimo aceito pela Instrução Normativa 51 (BRASIL, 2002) que é de 8,4%. Para os outros tratamentos (doses de urina bovina), desde 2,5% até 7,5%, também foram encontrados com valores abaixo do mínimo exigido. Sendo que todos os tratamentos diferiram entre si, conforme houve aumento da dose, acarretando em diminuição do teor do componente. Esta diminuição atingiu o valor de até 5%. Assim como na outras variáveis, uma possível explicação seria pelo fato da adição de urina com efeito de diluição dos sólidos presentes no leite.

Figura 41 - Distribuição dos resultados de extrato seco desengordurado para as diferentes doses de urina bovina nos diferentes tempos de armazenamento

A lactose apresentou mesmo comportamento do ESD para este tipo de fraude (urina bovina). Todos os tratamentos diferiram entre si ($P < 0,05$) e apenas o tratamento controle manteve-se dentro da faixa de variação do componente citada por Dürr et al. (2006) como sendo entre 4,05 e 4,50%.

Figura 42 - Distribuição dos resultados de lactose para as diferentes doses de urina bovina nos diferentes tempos de armazenamento

O efeito da adição de urina ao leite mostrou-se bem definido, com aumento significativo do pH conforme aumento da dose utilizada. Nos dias 1 e 3 todos os tratamentos diferiram entre si de forma significativa. Este aumento do pH conforme a dose de urina, pode ser explicado pelo pH do produto utilizado, causando alcalinização do leite. De acordo com González (2001) a faixa normal de variação do pH para amostras de leite bovino seria entre 6,60 e 6,90. No presente estudo, para os dias 1 e 3, os tratamentos 5,0 e 7,5% apresentaram valores superiores a faixa aceitável. Para o dia 5 apenas o tratamento 7,5% apresentou-se fora da faixa aceitável de pH.

Figura 43 - Distribuição dos resultados de pH do leite para as diferentes doses de urina bovina nos diferentes tempos de armazenamento

Na fraude com urina bovina seria possível sua detecção com equipamentos eletrônicos através da combinação de análise de composição, mais especificamente ESD, lactose e NUL com características físico-químicas do leite, como o pH. Para este específico caso de fraude, as amostras que deveriam ser verificadas quanto sua veracidade apresentariam queda no valor de ESD e lactose, assim como, elevação dos valores de NUL e pH.

Uréia Pecuária

A fraude com uréia pecuária adicionada ao leite não mostrou efeitos independentes, mas sim, todas as variáveis estudadas apresentaram interação significativa entre tratamento (dose) e tempo de armazenamento. O comportamento das variáveis estudadas perante a interação pode ser observado nas Figuras de 44 a 52.

A CBT e CCS de modo geral apresentaram variações, porém mesmo assim todos os tratamentos e em todos os dias de análise, permaneceram dentro dos limites aceitáveis da Instrução Normativa. Independente do dia e da dose, a CBT apresentou-se abaixo do valor médio de 462×10^3 ufc/mL citado por Machado e Cassoli (2006), para amostras de leite da região Sudeste do Brasil. A CCS apresentou-se com variação próxima da apresentada por Machado e Cassoli (2006), que mostraram a variação de 416 a 600 mil cél/mL de amostras de tanque de expansão da região Sudeste do Brasil ao longo de um ano.

Figura 44 - Distribuição da contagem bacteriana total para as diferentes doses de uréia pecuária nos diferentes tempos de armazenamento

Figura 45 - Distribuição da contagem de células somáticas para as diferentes doses de uréia pecuária nos diferentes tempos de armazenamento

Na Figura 46, pode ser observado o comportamento do teor de proteína ao longo dos dias de análise e das doses de uréia pecuária. De modo geral, pode ser observada uma elevação média de até 18% do teor de proteína conforme o aumento da dose de uréia pecuária adicionada. Esta variação pode ser explicada pelo princípio de funcionamento do equipamento: faz a leitura por meio de absorção infravermelha, baseando-se no comprimento de onda emitido por cada componente químico do leite e não é capaz de diferenciar se sua origem é orgânica ou inorgânica (BIGGS, 1987). Assim, a adição de uréia ao leite aumentou a concentração de nitrogênio e o equipamento não pôde identificar se o nitrogênio foi proveniente de fonte orgânica (proteína) ou inorgânica (uréia), e acabou identificando todo nitrogênio como proteína.

O valor médio dos tratamentos permaneceu dentro da faixa de variação do componente encontrado por Souza et al. (2006) e Dürr et al. (2006). A exceção foi o tratamento 7,5% que apresentou valor médio acima do valor máximo da faixa citada pelos autores, independente do dia de análise. Mas não pode ser detectada a fraude simplesmente com a análise deste teor, pois existe grande variação do teor de proteína que pode ser explicada por fatores como raça, clima, nutrição, conforme citado por Peres (2001). Estes fatores acima citados podem resultar em valores de proteína por vezes, até acima do apresentado pelo tratamento 7,5%.

O teor de uréia no leite é considerável principalmente para a fabricação de produtos lácteos, já que a elevação da proteína total do leite pela adição de uréia, pode não apresentar vantagens em termos de rendimento industrial na fabricação do queijo, uma vez que, o maior rendimento deste lácteo, depende da maior concentração de caseína do leite (BLOCK, 2000 apud AQUINO et al., 2006).

Figura 46 - Distribuição da proteína do leite para as diferentes doses de uréia pecuária nos diferentes tempos de armazenamento

Quanto ao teor de gordura das amostras, na Figura 47 pode ser observado que todos os tratamentos apresentaram valores dentro dos limites aceitáveis pela Instrução Normativa 51, ou seja, acima de 3,0% (BRASIL, 2002). Os tratamentos não diferiram entre si, com exceção do tratamento com 7,5% de uréia que apresentou-se em todos os dias com menor ($P < 0,05$) teor de gordura quando comparado com os outros tratamentos. Uma possível explicação seria que durante a análise pelo equipamento de composição, o comprimento de onda é dividido em 4 faixas. Cada faixa é relacionada a um componente do leite e analisada por um canal exclusivo para cada um. Assim, o resultado expresso em um canal pode gerar interferência no resultado de outro (LYNCH et al., 2006). Ou seja, como já foi observada uma grande elevação do teor de proteína (Figura 46), este canal, pode ter causado interferência no canal de leitura do teor de gordura.

Figura 47 - Distribuição da gordura do leite para as diferentes doses de uréia pecuária nos diferentes tempos de armazenamento

O ESD apresentou comportamento semelhante ao comportamento do teor de proteína, com aumento no teor conforme o aumento da dose, para todos os dias de análise. A Instrução Normativa 51 comenta o valor mínimo de ESD para comercialização de leite cru refrigerado como sendo 8,4% (BRASIL, 2002). Assim sendo, os tratamentos controle e 2,5%, estariam como não aceitos perante a legislação em vigor. Mas na comparação do valor médio com os valores de referência da variação do componente entre 8,1 e 8,6%, citado por Dürr et al. (2006), apenas o tratamento encontrou-se acima dos limites, para todos os dias de análise.

Figura 48 - Distribuição do teor de extrato seco desengordurado para as diferentes doses de uréia pecuária nos diferentes tempos de armazenamento

Quanto a lactose, o tratamento controle foi o único que permaneceu dentro dos limites de variação do componente de 4,05 a 4,50%, citado por Dürr et al. (2006). Sendo que todos os tratamentos diferiram entre si ($P < 0,05$), com exceção dos tratamentos controle e 2,5% no dia 5. Esta queda no teor de lactose pode ser explicada pelo efeito de diluição, pois a fraude com uréia foi utilizada a partir de uréia pecuária diluída em água destilada. Outra possibilidade seria a influência na leitura do equipamento, assim como para o teor de proteína, explicado anteriormente. Como o equipamento possui 4 canais para leitura dos componentes, a interferência causada em um canal, no caso o de proteína, pode também alterar o resultado do outro canal (BIGGS, 1987), como a lactose.

Figura 49 - Distribuição do teor de lactose as diferentes doses de uréia pecuária nos diferentes tempos de armazenamento

Como a fraude foi realizada com a adição de uréia, já era esperado um aumento em seu teor no leite. Na Figura 50 pode ser observado o comportamento do NUL para os tratamentos e os dias de análise. Todos os tratamentos apresentaram diferença significativa entre si, independente do dia de análise. Somente o tratamento controle encontrou-se durante todos os dias de análise dentro da faixa ideal de NUL (10 a 14 mg/dL) para amostras de tanque de expansão citado por Machado e Cassoli (2006). Já para o tratamento de 2,5% foi encontrado aumento médio no primeiro dia de análise de 4 vezes o valor do tratamento controle. O tratamento 7,5% chegou a atingir um aumento de até 17 vezes, já no primeiro dia de análise.

Figura 50 - Distribuição do teor de nitrogênio uréico no leite para as diferentes doses de uréia pecuária nos diferentes tempos de armazenamento

Quanto as características físico-químicas do leite, em termos gerais, o pH apresentou queda significativa em seu valor para todos os tratamentos ao longo dos 3 dias de análise. Somente o tratamento controle não apresentou queda em seu valor entre as análises do 3° e 5° dia. Porém mesmo com esta queda, todos os valores estavam dentro da faixa de variação normal para pH de leite bovino, que González (2001) citou como sendo entre 6,60 e 6,90.

Figura 51 - Distribuição dos resultados de pH do leite para as diferentes doses de uréia pecuária nos diferentes tempos de armazenamento

Para a acidez titulável, no primeiro dia, os tratamentos com fraude por uréia pecuária diferiram do tratamento controle. Para os outros dias de análise, todos os tratamentos diferiram entre si. A faixa de variação para acidez titulável presente na Instrução Normativa 51 é definida entre 14 e 17°D (BRASIL, 2002). Assim, no primeiro dia de análise, nenhum tratamento apresentou-se fora desta. Porém, nos seguintes dias de análise, os tratamentos 5,0 e 7,5% apresentaram-se além dos limites, conforme demonstrado na Figura 52. No entanto, somente a quantificação da acidez titulável não seria possível para a detecção de fraude por uréia pecuária, pois muito fatores podem intereferir, principalmente elevando a acidez titulável do leite. Peres (2001) discorreu sobre a maior acidez titulável em função da raça, manejo dos animais que resultam em aumento de componentes do leite como fosfatos, citratos e proteína.

Figura 52 - Distribuição dos resultados de acidez titulável do leite para as diferentes doses de uréia pecuária nos diferentes tempos de armazenamento

O uso de uréia pecuária, de acordo com os resultados apresentados, seria possível com simples análises como a dosagem de NUL, aliada com a queda no teor de lactose. Estes componentes foram os que apresentaram maior variação com a fraude, atingindo valores excessivamente discordantes com os valores de referência citados por Dürr et al. (2006) e Machado e Cassoli (2006), respectivamente.

5.4 Conclusões

A fraude com os diferentes produtos causou alterações diversas na qualidade do leite. O soro de leite adicionado ao leite cru provocou uma queda significativa do teor de extrato seco desengordurado. Assim, esta redução seria um indicativo da adulteração, porém, para detectar este tipo de fraude faz necessária a combinação de diversas análises físico-químicas. A crioscopia provavelmente identificaria a presença de soro, devido a uma alteração no ponto de congelamento. A fraude com urina bovina poderia ser identificada através de uma combinação das análises de ESD e lactose, cujos teores diminuem com a fraude com urina e o NUL, que aumenta proporcionalmente a dose de urina no leite. Além disso, o pH também pode ser utilizado como indicativo de fraude, já que o pH foi significativamente maior do que o tratamento controle. A adição de uréia pecuária no leite cru causou aumento significativo de nitrogênio uréico (NUL),

aliada a uma queda no teor de lactose. Assim, este tipo de fraude seria identificado apenas com a análise de NUL. A fraude no teor de proteína do leite exige a combinação de algumas análises para a correta identificação do problema.

Referências

ALMEIDA, K.E.; BONASSI, I.A.; ROÇA, R.O. Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas e preparadas com soro de queijo Minas Frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 2, p. 187-192, 2001.

ALMEIDA, T.L.; COELHO, K.O. NICOLAU, E.S.; MESQUITA, A.J.; SOUZA, C.M.; OLIVEIRA, A.N. Determinação de caseinomacropeptídeo em amostras de leite cru refrigerado submetido a diferente tempo de armazenamento. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2., 2006, Goiânia. **Anais ...** Goiânia: UFG, 2006. 1 CD-ROM.

ÁLVARES, J. G. Pagamento do leite por sólidos. In: SIMPÓSIO SOBRE BOVINOCULTURA LEITEIRA, 5., 2005, Piracicaba. **Visão técnica e econômica da produção leiteira**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 129-140.

AQUINO, A.A; BOTARO, B.G.; ALBERTO, A.S.S.; GIGANTE, M.L.; SANTOS, M.V. Rendimento de fabricação de queijos Minas Frescal obtidos a partir do leite de vacas alimentadas com níveis crescentes de uréia na dieta. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2., 2006, Goiânia. **Anais ...** Goiânia: UFG, 2006. 1 CD-ROM.

ARAÚJO, E.H. **Redução na poluição dos laticínios pela transformação da lactose do soro de queijo em etanol**. Disponível em: <www.pp.ufu.br/Cobenge2001/trabalhos/EMA008.pdf>. Acesso em: 29 ago. 2007.

BARCINA, Y.; ZORRAQUINO, M.A.; PEDAUYE, J.; ROS, G.; RINCON, F. Azidiol as a perservative for milk samples. **Anales de Veterinaria de Murcia**, Murcia, v.3, p.65-69, 1987.

BEHMER, M.L.A. **Tecnologia do leite**: produção, industrialização, análise. São Paulo: Nobel, 1999. 324 p.

BIGGS, D.A. Milk analysis with the Infrared Analyzer. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 50, n. 5, p. 799-803, 1987.

BRASIL. Ministério da Justiça, Secretaria de Direito Econômico, Departamento de Proteção e Defesa do Consumidor. Lei n. 8078, de 11 de setembro de 1990. Dispõe

sobre a proteção do consumidor e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, 12 set. 1990.

BRASIL. Instrução Normativa nº 51, de 20 de setembro de 2002. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite. **Diário Oficial da União**, Brasília, Seção 1, p.13, 21 set. 2002.

DÜRR, J.W.; MORO, D.V.; RHEINHEIMER, V.; TOMAZI, T. Estado atual da qualidade do leite no Rio Grande do Sul. In: MESQUITA, A.J.; DÜRR, J.W.; COELHO, K.O. **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia: Talento Gráfica e Editora, 2006. p. 83-94.

FURTADO, M.A.M. **Desenvolvimento de um novo método analítico para a determinação de soro de leite adicionado ao leite pasteurizado**. 1989. 98 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1989.

GONZALEZ, F.H.D. Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação. In: GONZALEZ, F.H.D.; DÜRR, J.W.; FONTANELLI, R.S. **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: UFRGS, 2001. p.46-60.

INSTITUTO BRASILEIRO DE DEFESA DO CONSUMIDOR. **Pesquisa detecta alto nível de soro no leite**. Disponível em: <<http://www.idec.org.br/noticia.asp?id=1348>>. Acesso em: 15 ago. 2006.

LYNCH, J.M.; BARBANO, D.M.; SCHWEISTHAL, M.; FLEMING, J.R. Precalibration evaluation procedures for mid-Infrared milk analysers. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, p. 2751-2774, 2006.

MACHADO, P.F.; CASSOLI, L.D. Diagnóstico da qualidade do leite na região Sudeste. In: MESQUITA, A.J.; DÜRR, J.W.; COELHO, K.O. **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia: Talento Gráfica e Editora, 2006. p. 55-72.

MESQUITA, A.J.; NEVES, R.B.S.; COELHO, K.O.; BUENO, V.F.F.; MESQUITA, A.Q. A qualidade do leite na região Centro Oeste. In: MESQUITA, A.J.; DÜRR, J.W.; COELHO, K.O. **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia: Talento Gráfica e Editora, 2006. p. 9-21.

MEYER, P.M. **Fatores não-nutricionais que afetam as concentrações de nitrogênio uréico no leite**. 2003. 131 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

MONARDES, H. Reflexões sobre a qualidade do leite. In: DÜRR, J.W.; CARVALHO, M.P.; SANTOS, M.V. **O compromisso com a qualidade do leite no Brasil**. Passo Fundo: Editora Passo Fundo, 2004. p. 11-37.

MONARDES, H.G.; MOORE, R.K.; CORRIGAN, B.; RIOUX, Y. Preservation and storage mechanisms for raw milk samples for use in milk-recording schemes. **Journal of Food Protection**, Iowa, v. 59, n. 2, p. 151-154, 1996.

OLIVEIRA, K. **Aumento das importações do soro de leite gera suspeitas sobre fraudes em bebidas lácteas**. Disponível em:

<<http://www.radiobras.gov.br/materia.phtml?materia=160016&q=1&editoria=EC>>
Acesso em: 15 ago. 2006.

PEREIRA, D.B.C.; SILVA, P.H.F.; COSTA JÚNIOR, L.C.G.; OLIVEIRA, L.L. **Físico-química do leite e derivados: métodos analíticos**. Juiz de Fora: EPAMIG, 2001. 234 p.

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

SILVA, L.F.P.; PEREIRA, A.R.; MACHADO, P.F.; SARRIÉS, G.A. Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite II – lactose e sólidos totais. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.37, n. 4, 2000.

SOARES, E.C.; RAMOS, A.L.S.; RAMOS, E.M. Efeitos de diferentes concentrações de soro nas características físico-químicas de leite cru. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 9., 2005, Jequié. **Anais ... Jequié**: UESB, 2005. 1 CD-ROM.

SOARES, E.C.; BITTENCOURT, J.N.; RAMOS, A.L.S.; RAMOS, E.M. Análise estatística multivariada como teste para detecção de adição de soro ao leite pasteurizado. **Revista do Instituto de Laticínios “Cândido Tostes”**, Juiz de Fora, v. 351, n. 61, p.37-42, 2006.

SOUZA, E.M.T.; ARRUDA, S.F.; BRANDÃO, P.O.; SIQUEIRA, E.M.A. Eletrophoretic analysis to detect and quantify additional whey in milk and dairy beverages. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 3, p.314-317, 2000.

SOUZA, G.N.; BRITO, J.R.F.; FARIA, C.G. Qualidade do leite de rebanhos bovinos localizados na região Sudeste: Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Julho /2005 a Junho/2006. In: MESQUITA, A.J.; DÜRR, J.W.; COELHO, K.O. **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia: Talento Gráfica e Editora, 2006. p. 39-53.

VELOSO, A.C.A.; TEIXEIRA, N.; FERREIRA, I.M.P.L.V.O.; FERREIRA, M.A. Detecção de adulterações em produtos alimentares contendo leite e/ou proteínas lácteas.

Química Nova, São Paulo, v. 25, n. 4, p. 609-615, 2002.

WOLFSCHOON-POMBO, A.F.; FURTADO, M.M. Nota prévia: Composição dos soros de queijo Prato e Minas. **Revista do Instituto de Laticínios “Cândido Tostes”**, Juiz de Fora, v. 32, p. 21-23, 1977.