

NOTA

TEMPO DE AQUECIMENTO DO LEITE E A CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS E PORCENTAGENS DE GORDURA E PROTEÍNA

Alfredo Ribeiro Pereira^{1*}; Cristiane Antonia de Oliveira²; Paulo Fernando Machado²; Gabriel Adrián Sarriés³

¹Pós-Graduando do Depto. de Produção Animal - ESALQ/USP.

²Depto. de Produção Animal - ESALQ/USP, C.P. 9 - CEP: 13418-900 - Piracicaba, SP.

³Depto. de Ciências Exatas - ESALQ/USP.

*e-mail: alrperei@carpa.ciagri.usp.br

RESUMO: Com o objetivo de se determinar o efeito do tempo de aquecimento de amostras de leite sobre sua contagem de células somáticas (CCS), porcentagens de gordura e proteína foi realizado um experimento com delineamento em blocos casualizados (10 blocos com 9 parcelas). Os tratamentos foram aquecimento em banho-maria a 40 °C nos tempos de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, e 90 minutos. As amostras de leite foram analisadas nos equipamentos Somacount 300 (CCS) e Bentley 2000 (% de gordura e proteína). Os resultados obtidos foram analisados através de análise de variância, teste F e análise de regressão. A CCS e a % de proteína não sofreram alteração pelo tempo de aquecimento. A análise de variância da % de gordura detectou efeito do tempo de aquecimento, mas a análise de regressão não indicou nenhuma regressão possível, sendo que esta variação provavelmente foi ao acaso. Os dados permitem concluir que o tempo de aquecimento em banho-maria a 40°C não é um fator que afete a CCS ou as porcentagens de gordura e proteína do leite, viabilizando maior período de manipulação laboratorial das amostras.

Palavras-chave: células somáticas, gordura, proteína, tempo de aquecimento, leite

MILK HEATING TIME AND SOMATIC CELL COUNT AND FAT AND PROTEIN PERCENTAGES

ABSTRACT: The effect of the heating time on somatic cell count (SCC), fat and protein in milk samples was evaluated in a completely randomized block experiment with 10 blocks with 9 replicates). Treatments used a double boiler heated to 40°C for: 10 (control), 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, and 90 minutes. Milk samples were analysed using the fluxometric cytometry (CCS) and infrared absorbance (fat and protein percentage) equipments. Results are discussed using analysis of variance, F test and regression analysis. There were no effects of the heating time for CCS and protein percentage. Analysis of variance indicated a heating time effect on fat percentage, however the regression analysis indicated no suitable regression. It was concluded that the heating time in a double boiler at 40°C does not affect CCS and fat and protein milk percentages, which allows a longer period of laboratory handling.

Key words: somatic cell, fat, protein, heating time, milk

INTRODUÇÃO

A introdução de analisadores automáticos de leite tem permitido o desenvolvimento de laboratórios centrais para análise de leite, 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).

Devido a destinação que se dará aos resultados das análises é muito importante que a colheita, o acondicionamento e transporte das amostras até o laboratório, o preparo para análise e a análise propriamente dita sejam corretamente conduzidos para que se obtenha dados confiáveis.

A operação que toma mais tempo durante o manipulação laboratorial é o aquecimento das amostras que é realizado em banho maria a 40°C por 10 minutos. Geralmente durante o aquecimento das amostras o laboratorista executa alguma outra tarefa, inclusive operação da máquina de análise de leite, com o objetivo de melhor utilizar seu tempo, mas muitas vezes ele não consegue finalizar a tarefa antes do termino do tempo de aquecimento, assim as amostras são aquecidas por mais tempo que o padrão.

O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito do tempo de aquecimento de amostras de leite em banho-maria sobre suas porcentagens de gordura e proteína e sua contagem de células somáticas (CCS).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram colhidas amostras de leite de 10 vacas que não apresentavam sinais clínicos de mastite. As amostras foram então cuidadosamente homogeneizadas e divididas em 9 subamostras com 60 ml de leite, perfazendo-se um total de 90 amostras de leite.

O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados. Assim o leite de cada vaca representou um bloco, e cada subamostra uma parcela.

O modelo matemático utilizado foi $y_{ij} = \mu + \tau_i + b_j + \varepsilon_{ij}$, onde: y_{ij} é a contagem de células somáticas obtida no bloco (leite) j , pelo efeito do tratamento (tempo de aquecimento) i , sob a ação da variação ao acaso ε_{ij} associada a esta amostra;

μ é uma constante;
 τ_i é o efeito do tratamento i (tempo de aquecimento) da amostra;
 b_j é o efeito do bloco j , isto é do leite de cada vaca;
 ε_{ij} é a variação do acaso associada a amostra ij .

As noventa amostras foram aquecidas em banho maria a 40°C (Bentley 1995) e a cada 10 minutos foi retirada do banho uma parcela de cada bloco para serem analisadas para contagem de células somáticas, porcentagens de gordura e proteína.

As análises de gordura e proteína foram executadas por absorção infravermelha no equipamento Bentley 2000 (Bentley 1995) e as contagens de células somáticas foram executadas por citometria fluxométrica no equipamento Somacount 300. Este equipamento é baseado na

contagem de DNA reagido com corante e iluminado por raio laser (Somacount 1995).

As análises estatísticas foram realizadas no pacote estatístico SAS Institute (1990), utilizando-se do procedimento de modelos lineares gerais (Proc GLM) e o procedimento de regressão (Proc Reg), aplicando-se análise de variância, teste F e análise de regressão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Contagem de Células Somáticas

Foi realizada análise de variância e foi aplicado o teste F nos dados de contagem de células somáticas como indicado na TABELA 1.

O quadro de análise de variância na

TABELA 1 - Análise de variância e aplicação do teste F nas contagens de células somáticas do leite.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	Pr >F
TEMPO	8	4597,76	574,72	0,8512
BLOCOS	9	4035189,82	448354,42	0,0001
RESÍDUO	72	82530,58	1145,88	
TOTAL	89	4122291,16		

TABELA 1 indica que ocorreu o efeito esperado do bloco, mas não houve efeito do tempo de aquecimento ($P > 0,8512$), isto é a probabilidade de erro ao se afirmar que o tempo de aquecimento possui efeito sobre a CCS é de 85% sobre a contagem de células somáticas. A ausência de efeito pode também ser visualizada na figura 1, onde claramente é mostrado pela linha de tendência que é aproximadamente horizontal mostrando nenhuma alteração da CCS ao longo do tempo. Além disso a equação determinada para a CCS em função do tempo de aquecimento apresenta um coeficiente de determinação muito baixo ($r^2 = 0,0001$, o que significa que apenas um décimo de milésimo da variação da CCS pode ser explicada pelo tempo de aquecimento).

As moléculas de DNA geralmente desnaturam com o aumento de temperatura, normalmente acima de 80 a 90°C (Lehninger et al. 1995). Assim a temperatura utilizada (40°C) não foi capaz de provocar alterações no DNA que pudessem interferir na contagem de células somáticas realizada pelo equipamento.

O fato do tempo de aquecimento não ter

sido significativo é de grande importância, pois indica que as amostras permanecem confiáveis e podem ser utilizadas na determinação da CCS mesmo que por algum motivo elas permaneçam por mais tempo que o padrão em aquecimento.

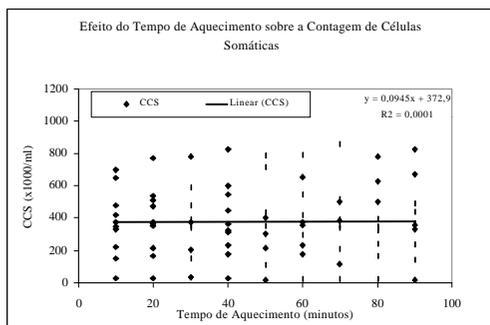


Figura 1 - Efeito do tempo de aquecimento sobre a contagem de células somáticas.

Porcentagem de Gordura

Foi realizada análise de variância e foi aplicado o teste F nos dados de porcentagem de gordura como é indicado na TABELA 2.

O quadro de análise de variância na TABELA 2 indica que houve efeito significativo do tempo de aquecimento das amostras sobre a porcentagem de gordura (P<0,0109).

Desse modo foi dado continuidade a análises estatísticas através da utilização da análise de regressão indicada na TABELA 3.

TABELA 2 - Análise de variância e aplicação do teste F nas porcentagens de gordura do leite.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	Pr > F
TEMPO	8	0,06342889	0,00792861	0,0109
BLOCOS	9	76,13822333	8,45980259	0,0001
RESÍDUO	72	0,2092911	0,00290175	
TOTAL	89	76,3284900		

TABELA 3 - Análise de regressão entre o tempo de aquecimento e porcentagens de gordura do leite.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	Pr > F
MODELO	1	0,00470	0,00470	0,9415
RESÍDUO	88	76,41058	0,86825	
TOTAL	89	76,41058		

As regressões linear e quadrática, ao serem analisadas mostraram-se não significativas (P>94,15 e P>99,73) como pode ser visto no quadro de análise de regressão da TABELA 3 e 4. A figura 2 também indica a não existência de efeito de tempo de aquecimento de amostras de leite sobre sua porcentagem de gordura através da horizontalidade da reta de tendência e através do coeficiente de determinação ($r^2=0,00006$, significa que 6 centésimos de milésimos da variação da porcentagem de gordura pode ser explicada pela variação do tempo de aquecimento).

O fato de que a análise de variância ter indicado efeito do tempo de aquecimento sobre e a porcentagem de gordura e a análise de regressão não ter sido significativa é explicado pelo fato de que os tempos de aquecimento não diferiram do tempo padrão (10 minutos) com exceção dos tempo de 20 e 70 minutos (teste de Dunnett a 5% de significância, porém quando realizado a 1% deixa de ser significativa as diferenças entre as médias), assim a análise de variância detectou diferença, mas por serem pontos dispersos e distantes levou a análise de regressão a não detectar efeito do tempo de aquecimento sobre as porcentagens de gordura.

TABELA 4 - Análise de regressão quadrática entre o tempo de aquecimento e porcentagens de gordura do leite.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	Pr > F
MODELO	2	0,00471	0,00235	0,9973
RESÍDUO	87	76,40587	0,87823	
TOTAL	89	76,41058		

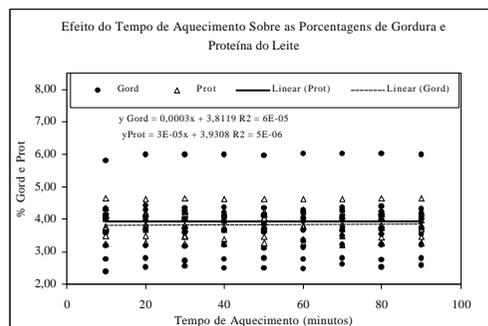


Figura 2 - Efeito do tempo de aquecimento sobre as porcentagens de gordura e proteína do leite.

Provavelmente a diferença nas porcentagens de gordura do tempo 2 e 7 seja devido a variação ao acaso, ou falha na homogeneização das amostras no momento da análise. Neste último caso a CCS e a porcentagem de proteína não foram afetadas por serem estes componentes mais facilmente homogeneizáveis que a gordura.

Porcentagem de Proteína

Foi realizada análise de variância e foi aplicado o teste F nos dados de porcentagem de proteína como é indicado na TABELA 5.

O quadro de análise de variância na TABELA 5 indica que houve o efeito esperado do bloco e houve uma tendência de efeito do tempo de aquecimento das amostras sobre a porcentagem de proteína, mas esta não foi significativa. Esta ausência de efeito do tempo de aquecimento é também visualizada pela figura 2 através da horizontalidade da reta de tendência da porcentagem de proteína e pelo coeficiente de determinação ($r^2=0,000005$, isto é 5 partes por milhão da variação de proteína pode ser explicada pela variação do tempo de aquecimento).

As proteínas desnaturam quando aquecidas a 40-50°C (Lehninger 1981), mas a caseína, que representa 80% da proteína do leite, é altamente resistente ao calor sendo necessário 12 horas a 100°C ou 1 hora a 120°C para a sua desnaturação (Oliveira & Caruso 1996). Novamente a temperatura utilizada não foi suficientemente alta para provocar alterações nas moléculas que pudessem interferir na determinação eletrônica da porcentagem de proteína.

Como na CCS, o tempo de aquecimento não foi significativo para a porcentagem de proteína, e isto é indicativo que as amostras de leite mesmo tendo sido aquecidas por mais tempo que o normal (até 90 minutos) poderão ser utilizadas na determinação da porcentagem de proteína.

TABELA 5 - Análise de variância e aplicação do teste F nas porcentagens de proteína do leite.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	Pr >F
TEMPO	8	0,04526222	0,00565778	0,0611
BLOCOS	9	13,37752889	1,48639210	0,0001
RESÍDUO	72	0,20567111	0,00285654	
TOTAL	89	13,62846222		

CONCLUSÃO

O aquecimento das amostras de leite por até 90 minutos (a 40°C) não altera a contagem de células somáticas ou porcentagens de gordura e proteína, possibilitando maior período de manipulação laboratorial das amostras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BENTLEY 2000. **Operator's manual**. Chaska: Bentley Instruments, 1995. 77p.
- LEHNINGER, A.L. **Biochemistry**. 2.ed. New York: Worth Publishers, 1981. 1104p.
- LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de bioquímica**. 2.ed. São Paulo: Savier, 1995. 839p.
- MONARDES, H.G.; MOORE, R.K.; CORRIGAN, B.; RIOUX, Y. Preservation and storage mechanism for raw milk samples for use in milk-recording schemes. **Journal of Food Protection**, v.59, n.2, p.151-154, 1996.
- OLIVEIRA, A.J. de; CARUSO, J.G.B. **Leite: obtenção e qualidade do produto fluido e derivados**. Piracicaba: FEALQ, 1996. 80p.
- SAS Institute. **SAS/STAT user's guide: version 6**. 4.ed. Cary: Statistical Analysis System Institute, 1990. 1022p.
- SOMACOUNT 300. **Operator's manual**. Chaska: Bentley Instruments, 1995. 112p.

Recebido para publicação em 13.05.99

Aceito para publicação em 26.07.99