

Efeito da temperatura e do tempo de armazenamento de amostras de leite cru nos resultados das análises eletrônicas

[Effect of temperature and time of storage of raw milk samples on electronic analysis results]

T.V. Almeida¹, R.B.S. Neves², E. Arnhold¹, C.S.M. Rezende¹, A.N. Oliveira¹, E.S. Nicolau¹

¹Escola de Veterinária e Zootecnia - (EVZ) - Universidade Federal de Goiás - Goiânia, GO

²Universidade Estadual de Goiás - São Luís de Montes Belos, GO

RESUMO

Objetivou-se com este trabalho avaliar os efeitos da temperatura e do tempo de armazenamento de amostras de leite cru refrigerado nos resultados das análises eletrônicas da qualidade do leite. Amostras de leite cru refrigerado foram coletadas de tanques de expansão de uso individual de fazendas localizadas na mesorregião Centro Goiano, no estado de Goiás, e armazenadas em quatro temperaturas diferentes (3°C, 11°C, 17°C e 25°C) durante 16 dias. Foram realizadas diariamente análises de contagem bacteriana total (CBT), contagem de células somáticas (CCS) e composição química. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância em esquema de parcelas subdivididas no tempo em delineamento de blocos ao acaso, e as médias comparadas pelo teste de Duncan. Concluiu-se que as amostras destinadas à análise de CBT, adicionadas do conservante azidiol, podem ser analisadas por até 16 dias após a coleta, quando armazenadas em temperaturas de 3°C e 11°C, e por até 10 dias, quando armazenadas a 17°C. As amostras destinadas às análises de CCS e composição química, adicionadas do conservante bronopol, podem ser analisadas por até 16 dias após a coleta, quando armazenadas em temperaturas de 3°C e 11°C, e por até sete dias, quando armazenadas a 17°C.

Palavras-chave: azidiol, bronopol, citometria de fluxo, composição química, contagem bacteriana total

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effects of temperature and storage time of cooled samples of raw milk on the results of milk quality electronic analysis. Refrigerated raw milk samples were collected from expansion tanks for individual use of farms located in the middle region of the state of Goiás, and stored at four different temperatures (3°C, 11°C, 17°C, and 25°C) for 16 days. Total bacterial count (TBC), somatic cell count (SCC), and chemical composition were performed daily. The results were submitted to analysis of variance in split plot design in randomized blocks, and the means were compared by Duncan test. We concluded that, when azidiol is added as preservative to samples for TBC, they can be analyzed up to 16 days after collection when stored at temperatures of 3°C and 11°C, and up to 10 days when stored at 17°C. Moreover, when bronopol is added as preservative, samples for SCC and chemical composition analysis can be stored for up to 16 days after collection when stored at temperatures of 3°C and 11°C, and for up to seven days when stored at 17°C.

Keywords: azidiol, bronopol, flow cytometry, chemical composition, total bacterial count

INTRODUÇÃO

No Brasil, a Instrução Normativa nº 62 (IN nº62), em vigor atualmente, define os parâmetros de qualidade e os critérios de avaliação do leite cru refrigerado, estabelecendo requisitos

microbiológicos, físico-químicos, de contagem de células somáticas e resíduos químicos. Os principais parâmetros utilizados para caracterizar a qualidade do leite e comumente utilizados para definir o preço pago ao produtor são: contagem bacteriana total (CBT), contagem de células somáticas (CCS) e teores de proteína e gordura (Brasil, 2011).

Recebido em 24 de fevereiro de 2016

Aceito em 6 de abril de 2016

E-mail: thamara_almeida@hotmail.com

Efeito da temperatura...

Para avaliação do cumprimento dos requisitos estabelecidos pela IN n°62 quanto aos parâmetros de qualidade, uma amostra de leite de cada propriedade ou de cada tanque comunitário deve ser analisada mensalmente por um dos laboratórios credenciados à Rede Brasileira de Laboratórios de Controle da Qualidade do Leite (RBQL) (Brasil, 2011). A confiabilidade dos resultados das análises depende das condições de coleta, armazenamento e transporte das amostras, sendo a temperatura de armazenamento e o tempo entre a coleta e a análise condições importantes que podem interferir nos resultados (Brito *et al.*, 2007).

Segundo Cassoli *et al.* (2010), as amostras de leite cru refrigerado com conservante adequado (bronopol nas amostras destinadas às análises de composição química e contagem de células somáticas; azidiol nas amostras destinadas à contagem bacteriana total), armazenadas sob refrigeração a 7°C, podem ser analisadas até sete dias após a coleta sem que ocorram diferenças significativas nos resultados. De acordo com Leite (2006), a temperatura e o tempo de armazenamento das amostras podem ser ainda maiores, até 10°C por até 10 dias.

Atualmente, de acordo com norma técnica interna da RBQL, são consideradas aptas para as análises eletrônicas as amostras de leite cru refrigerado que chegam ao laboratório com conservante adequado e com temperatura na faixa de 1°C a 10°C. Essas amostras são mantidas sob refrigeração no laboratório até o momento da análise, que deve ocorrer no máximo até 10 dias após a data da coleta.

Eventualmente ocorrem problemas que prejudicam a temperatura e o tempo estabelecidos para se efetuar as análises, como em casos de mau acondicionamento ou atrasos no envio das amostras, fazendo com que estas cheguem ao laboratório com temperaturas superiores a 10°C, ou ainda em casos de falhas nos equipamentos dos laboratórios, fazendo com que se ultrapasse o período de 10 dias de armazenamento das amostras. Nesses casos, as amostras não são analisadas, gerando transtornos para produtores, indústrias e laboratórios.

Objetivou-se com este trabalho avaliar os efeitos da temperatura e do tempo de armazenamento de amostras de leite cru refrigerado nos resultados

das análises eletrônicas da qualidade do leite. Assim, será possível sanar dúvidas ainda existentes sobre quais seriam a temperatura e o tempo máximos de armazenamento das amostras sem comprometer a confiabilidade dos resultados.

MATERIAL E MÉTODOS

Dez amostras de leite cru refrigerado (5,12 litros cada amostra) foram coletadas de tanques de refrigeração por expansão direta de uso individual em 10 propriedades leiteiras localizadas no município de Bela Vista de Goiás (GO), no dia 22 de novembro de 2014. Cada coleta foi realizada após a homogeneização do leite; para isso, ligou-se o agitador do tanque por um período de cinco minutos. As amostras foram acondicionadas em galões plásticos e transportadas em caixas isotérmicas contendo gelo até o Laboratório de Qualidade do Leite da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

No laboratório, cada amostra foi homogeneizada com agitador mecânico e subdividida em 128 subamostras, de 40mL cada, totalizando 1.280 subamostras. As subamostras foram acondicionadas em frascos plásticos contendo um comprimido de conservante, sendo 640 frascos contendo o conservante azidiol (Comprimido Azidiol, azida sódica e cloranfenicol, Laborclin, Brasil), destinados à análise de CBT, e 640 frascos contendo o conservante bronopol (Comprimido Brononata, bronopol e natamicina, Laborclin, Brasil), destinados às análises de CCS e de composição química.

Os frascos foram invertidos até a completa dissolução dos comprimidos e, a seguir, armazenados em quatro temperaturas diferentes (3°C, 11°C, 17°C e 25°C), sendo 320 frascos para cada temperatura. Destes 320 frascos, 160 continham o conservante azidiol e 160 continham o conservante bronopol. Após 24 horas de armazenamento, iniciaram-se as análises, que foram realizadas diariamente durante 16 dias consecutivos. Cada dia foram analisadas 80 subamostras (quatro temperaturas x dois conservantes x 10 fazendas).

As análises foram realizadas no Laboratório de Qualidade do Leite do Centro de Pesquisa em

Alimentos da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás. Nas amostras contendo bronopol foram efetuadas as análises de CCS e de composição química em equipamento eletrônico CombiFoss 5000® (Foss Electric, Hillerod, Dinamarca), sendo Fossomatic 5000basic® para CCS e MilkoScan 4000® (Foss Electric, Hillerod, Dinamarca) para composição química. Nas amostras contendo azidiol foram efetuadas as análises de CBT em equipamento eletrônico BactoScan FC® (Foss Electric, Hillerod, Dinamarca).

Utilizou-se o esquema de parcelas subdivididas no tempo em delineamento de blocos ao acaso, em que cada fazenda foi considerada um bloco, tendo como parcelas as temperaturas de armazenamento (3°C, 11°C, 17°C e 25°C) e como subparcelas as idades das amostras (um, quatro, sete, 10, 13 e 16 dias). Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Duncan. Os resultados de CBT e CCS foram transformados em logaritmo na base 10 para a

análise estatística. Utilizou-se o *software* estatístico R (R Core Team, 2015).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios, mínimos e máximos dos resultados de CBT, CCS e composição química no primeiro dia de análise de amostras de leite cru refrigerado armazenadas a 3°C estão apresentados na Tab. 1. Todas as fazendas apresentaram CBT de acordo com a legislação, que estabelece limite máximo de 300.000UFC/mL. Quanto à CCS, apenas uma fazenda apresentou resultado em desacordo com a legislação, com 599.000CS/mL enquanto a IN n°62 estabelece limite máximo de 500.000CS/mL. Em relação aos resultados de composição química, uma fazenda apresentou teor de gordura de 2,94%, enquanto a IN n°62 estabelece limite mínimo de 3,0%. Outra fazenda apresentou teor de proteína de 2,89% e teor de extrato seco desengordurado (ESD) de 8,39, enquanto a IN n°62 estabelece limite mínimo de 2,9% e 8,4% respectivamente.

Tabela 1. Média, desvio-padrão (DP) e valores mínimos e máximos dos resultados de CBT, CCS e composição química de amostras de leite cru refrigerado armazenadas por um dia a 3°C

Variáveis analisadas	Média ± DP	Mínimo	Máximo
CBT (10 ³ UFC/mL)	17,08±0,37	7	128
CCS (10 ³ CS/mL)	335,27±0,15	192	599
Proteína (g/100g)	3,14±0,14	2,89	3,35
Gordura (g/100g)	3,41±0,34	2,94	3,92
Lactose (g/100g)	4,54±0,11	4,33	4,72
EST (g/100g)	12,09±0,32	11,64	12,67
ESD (g/100g)	8,68±0,13	8,39	8,84

Para todas as variáveis analisadas, ocorreu interação significativa entre temperatura e tempo. Nos resultados de CBT das amostras de leite cru refrigerado, armazenadas durante 16 dias em diferentes temperaturas (Tab. 2), foi observado que os resultados das amostras armazenadas a 3°C não diferiram ($P>0,05$) das amostras armazenadas a 11°C ao longo dos 16 dias de armazenamento. Os resultados de CBT das amostras armazenadas a 17°C não diferiram ($P>0,05$) das amostras armazenadas a 3°C e 11°C até 10 dias de armazenamento. No primeiro dia de análise, os resultados de CBT das amostras mantidas sob refrigeração a 3°C, 11°C e 17°C não diferiram ($P>0,05$) das mantidas sob temperatura ambiente de 25°C. Portanto,

somente o conservante azidiol foi suficiente para cessar o crescimento bacteriano nas amostras com um dia de armazenamento. Resultado diferente foi encontrado por Cassoli *et al.* (2010), em que as amostras mantidas em temperatura ambiente de 24°C já apresentaram uma CBT maior desde o primeiro dia de análise.

Os altos valores de CBT das amostras armazenadas em temperatura ambiente de 25°C ao longo dos 16 dias de armazenamento (Fig. 1) ressaltam a importância da refrigeração com o conservante azidiol para cessar o crescimento bacteriano nas amostras de leite cru.

Efeito da temperatura...

Tabela 2. Médias dos resultados de CBT (log de UFC/mL) em amostras de leite cru armazenadas durante 16 dias em diferentes temperaturas

Tempo (dias)	Temperatura			
	3°C	11°C	17°C	25°C
1	4,2327aA	4,2783aAB	4,3106aA	4,2309aA
4	4,2753aA	4,2922aAB	4,3127aA	5,4430bB
7	4,3763aA	4,4079aA	4,4067aAB	6,7217bC
10	4,2436aA	4,2718aAB	4,4883aAB	6,8380bC
13	4,1493aA	4,0899aB	4,6866bB	6,9187cC
16	4,2349aA	4,3348aAB	5,1763bC	7,2322cD

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes nas linhas diferem entre si pelo teste de Duncan ($P < 0,05$).

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes nas colunas diferem entre si pelo teste de Duncan ($P < 0,05$).

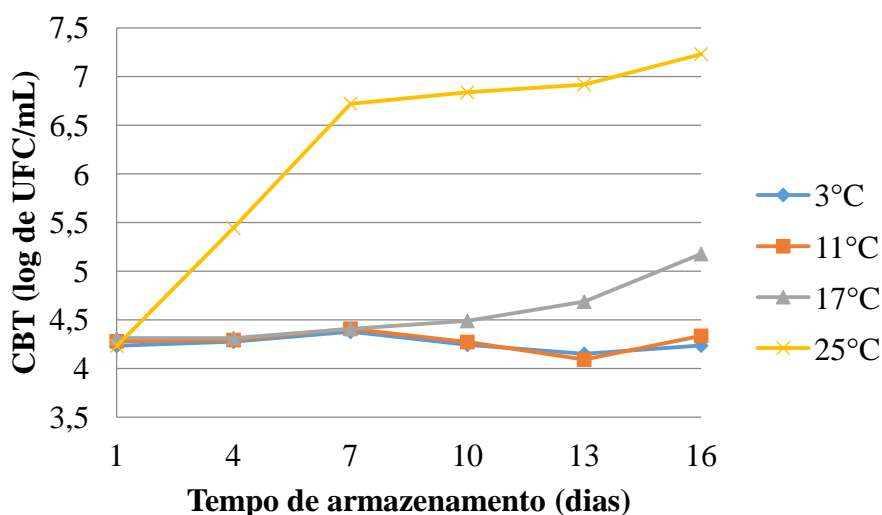


Figura 1. Médias dos resultados de CBT (log de UFC/mL) em amostras de leite cru armazenadas durante 16 dias em diferentes temperaturas.

De acordo com Martins *et al.* (2009), amostras destinadas à CBT mantidas sob refrigeração entre 1°C e 4°C podem ser analisadas até seis dias após a coleta. De acordo com Cassoli *et al.* (2010), as amostras destinadas à CBT armazenadas sob refrigeração a 7°C podem ser analisadas por até sete dias após a coleta. Segundo Zeni (2014), amostras de leite de cabra armazenadas em temperaturas de até 10°C podem ser analisadas em até sete dias após a coleta sem que ocorram diferenças significativas na CBT. Souza *et al.* (2006) verificaram que não houve diferença na CBT nas amostras armazenadas até 10°C ao longo dos sete dias de armazenamento. Segundo Leite (2006), amostras armazenadas sob refrigeração a 4°C, 7°C e 10°C podem ser analisadas para CBT, sem que ocorram diferenças significativas, por até 10 dias de armazenamento.

Os resultados encontrados por Cassoli *et al.* (2010), Zeni (2014), Souza *et al.* (2006) e Leite (2006), de sete, sete, sete e 10 dias, respectivamente, para o tempo de armazenamento de amostras de leite cru sem que ocorram diferenças significativas na CBT, correspondem ao tempo máximo pesquisado por autor.

Neste trabalho, observou-se que as amostras destinadas à CBT podem ser armazenadas por um período ainda maior de tempo. Quando mantidas sob refrigeração até 11°C, podem ser analisadas por até 16 dias de armazenamento. Já amostras armazenadas sob uma temperatura mais elevada, de 17°C, podem ser analisadas quanto à CBT por até 10 dias. Resultado diferente foi encontrado por Souza *et al.* (2006), em que as amostras armazenadas a 17°C apresentaram diferença na CBT a partir do quinto dia.

Nos resultados de CCS das amostras de leite cru refrigerado armazenadas durante 16 dias em diferentes temperaturas (Tab. 3), foi observado que os resultados das amostras armazenadas a 3°C não diferiram ($P>0,05$) das amostras armazenadas a 11°C ao longo dos 16 dias de armazenamento. Os resultados de CCS das amostras armazenadas a 17°C não diferiram ($P>0,05$) das amostras armazenadas a 3°C e 11°C até sete dias de armazenamento. As amostras armazenadas em temperatura ambiente de 25°C apresentaram diferenças quanto à CCS a partir do quarto dia. De acordo com Souza *et al.* (2005), amostras armazenadas a 27°C, 32°C e 36°C apresentaram diferenças significativas quanto à CCS a partir do quinto, quinto e terceiro dias, respectivamente. Segundo Leite (2006), amostras armazenadas a 30°C apresentaram diferenças significativas quanto à CCS a partir do sexto dia. Zeni (2014) não encontrou diferença entre as médias de CCS para as amostras de leite cru de cabra mantidas até 20°C e analisadas ao longo de cinco dias.

A CCS é maior nas amostras armazenadas sob refrigeração do que nas amostras armazenadas em temperatura ambiente (Fig. 2) porque a temperatura de refrigeração favorece a manutenção da integridade celular (Gonzalo *et al.*, 2003). Portanto, a causa da diminuição da CCS com o avançar do tempo de armazenamento pode ser atribuída à lise celular (Paula *et al.*, 2004). Gonzalo *et al.* (2003) armazenaram amostras de leite de ovelha em temperatura ambiente de 18°C a 25°C e observaram decréscimo de 31,3% na CCS nas amostras com nove dias de armazenamento. Neste trabalho, observou-se decréscimo de 47,9% na CCS nas amostras mantidas em temperatura ambiente de 25°C com 10 dias de armazenamento.

Leite (2006) observou uma redução de 14,89% na CCS de amostras mantidas sob refrigeração

(até 10°C) entre o primeiro (363,078CS/mL) e o 10º dia de armazenamento (309,029CS/mL). Neste trabalho, houve uma redução na CCS de apenas 1% nas amostras armazenadas a 11°C, de 340,88CS/mL no primeiro dia para 337,44 CS/mL no 10º dia.

Outros autores também obtiveram resultados diferentes, como Sánchez *et al.* (2005), que armazenaram amostras de leite de cabra sob refrigeração a 4°C e observaram decréscimo de 5% na CCS nas amostras com 10 dias de armazenamento. Gonzalo *et al.* (2003) armazenaram amostras de leite de ovelha sob refrigeração a 4°C e observaram decréscimo de 2,8% na CCS nas amostras com nove dias de armazenamento. Paula *et al.* (2004) observaram redução na CCS de 9,98% no sétimo dia de armazenamento de amostras sob refrigeração.

De acordo com Cassoli *et al.* (2010), as amostras destinadas à CCS armazenadas sob refrigeração a 7°C podem ser analisadas por até sete dias após a coleta. De acordo com Souza *et al.* (2005), amostras armazenadas sob refrigeração a 5°C podem ser analisadas quanto à CCS até sete dias após a coleta. Segundo Zeni (2014), amostras de leite de cabra armazenadas em temperaturas de até 10°C podem ser analisadas em até sete dias após a coleta sem que ocorram diferenças significativas na CCS. Já segundo Leite (2006), amostras armazenadas sob refrigeração até 7°C podem ser analisadas para CCS, sem que ocorram diferenças significativas, por até 10 dias de armazenamento. Esses resultados encontrados por Cassoli *et al.* (2010), Souza *et al.* (2005), Zeni (2014) e Leite (2006), de sete, sete, sete e 10 dias, respectivamente, para o tempo de armazenamento de amostras de leite cru sem que ocorram diferenças significativas na CCS, correspondem ao tempo máximo pesquisado por autor.

Tabela 3. Médias dos resultados de CCS (log de CS/mL) em amostras de leite cru armazenadas durante 16 dias em diferentes temperaturas

Tempo (dias)	Temperatura			
	3°C	11°C	17°C	25°C
1	5,5254aA	5,5326aA	5,5333aA	5,5332aA
4	5,5283abA	5,5358aA	5,5269aA	5,4774bB
7	5,5309aA	5,5257aA	5,5095aAB	5,3553bC
10	5,5332aA	5,5282abA	5,4670bBC	5,2499cD
13	5,5389aA	5,5416aA	5,4542bC	5,1767cE
16	5,5333aA	5,5220aA	5,3976bD	4,9841cF

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes nas linhas diferem entre si pelo teste de Duncan ($P<0,05$).

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes nas colunas diferem entre si pelo teste de Duncan ($P<0,05$).

Efeito da temperatura...

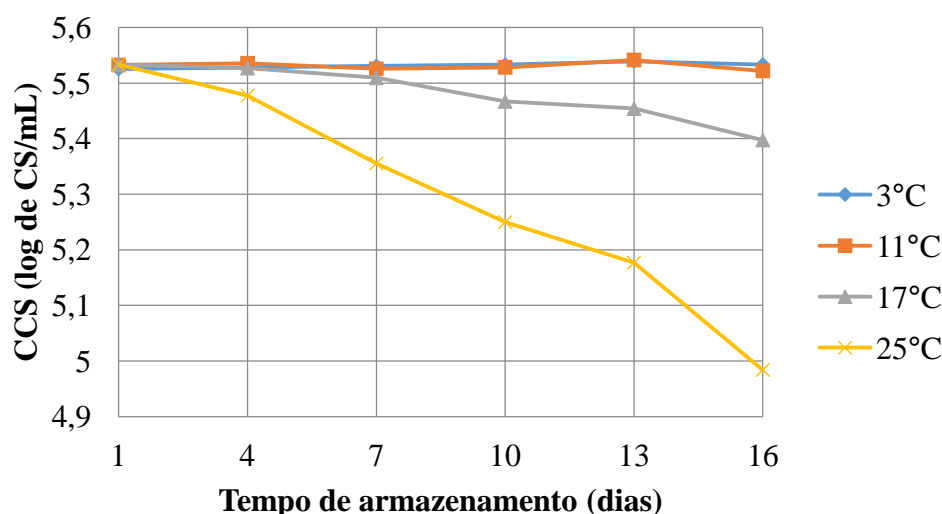


Figura 2. Médias dos resultados de CCS (log de CS/mL) em amostras de leite cru armazenadas durante 16 dias em diferentes temperaturas.

Neste trabalho, observou-se que as amostras destinadas à CCS podem ser armazenadas por um período ainda maior de tempo. Quando mantidas sob refrigeração até 11°C, podem ser analisadas com até 16 dias de armazenamento. Quando armazenadas sob uma temperatura mais elevada, de 17°C, as amostras podem ser analisadas por até sete dias.

Em relação aos resultados de composição química (teores de proteína, gordura, lactose, EST e ESD), apesar de o teste de Duncan apresentar diferenças no decorrer do armazenamento, na prática não houve diferença entre os resultados de composição química durante os 16 dias analisados, independentemente da temperatura de armazenamento (Tab. 4, 5, 6, 7 e 8). Pode-se concluir isto levando em consideração que os equipamentos eletrônicos utilizados para as análises apresentam limites de aceitabilidade para o desvio-padrão da repetibilidade de 0,06% para proteína, gordura e lactose e 0,1% para EST e ESD. Considerando os resultados das amostras de um dia a 3°C como controle, todos os demais resultados estão dentro desses limites de aceitabilidade (Whole..., 2000).

Cassoli *et al.* (2010) encontraram resultados semelhantes. Durante os sete dias avaliados, não houve diferença entre as amostras refrigeradas (7°C) e as mantidas em temperatura ambiente (24°C) em relação aos teores de proteína, gordura, lactose e EST. Por outro lado, segundo Leite (2006), os resultados das amostras mantidas em temperatura ambiente de 30°C diferiram a partir do quinto dia de armazenamento para EST e a partir do sexto dia para teor de lactose. Em relação aos teores de proteína, gordura e ESD das amostras mantidas sob mesma temperatura (30°C), não houve diferença significativa durante os oito dias avaliados. Já as amostras mantidas sob refrigeração até 10°C não apresentaram diferenças significativas durante os 10 dias avaliados em relação às análises de composição química.

De acordo com Sánchez *et al.* (2005), amostras de leite de cabra armazenadas sob refrigeração a 4°C não apresentam diferenças significativas para EST e proteína por até 42 dias de armazenamento.

Tabela 4. Médias dos valores de proteína (g/100g) em amostras de leite cru refrigerado armazenadas durante 16 dias em diferentes temperaturas

Tempo (dias)	Temperatura			
	3°C	11°C	17°C	25°C
1	3,14aC	3,14aD	3,15aB	3,14aC
4	3,14bC	3,15abCD	3,15abB	3,15aAB
7	3,16aB	3,15abBC	3,15bcB	3,14cC
10	3,16aB	3,16aB	3,16aA	3,16aA
13	3,17aA	3,17aA	3,16aA	3,15bBC
16	3,14abC	3,15aCD	3,14bcC	3,13cD

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes nas linhas diferem entre si pelo teste de Duncan ($P < 0,05$).

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes nas colunas diferem entre si pelo teste de Duncan ($P < 0,05$).

Tabela 5. Médias dos valores de gordura (g/100g) em amostras de leite cru refrigerado armazenadas durante 16 dias em diferentes temperaturas

Tempo (dias)	Temperatura			
	3°C	11°C	17°C	25°C
1	3,41bB	3,45aA	3,44aAB	3,43abAB
4	3,43aAB	3,41aBC	3,41aC	3,37bC
7	3,42abAB	3,41bBC	3,44aAB	3,42abAB
10	3,43abAB	3,42abAC	3,44aAB	3,40bB
13	3,42aAB	3,40aC	3,42aBC	3,35bC
16	3,45aA	3,43aAB	3,46aA	3,44aA

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes nas linhas diferem entre si pelo teste de Duncan ($P < 0,05$).

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes nas colunas diferem entre si pelo teste de Duncan ($P < 0,05$).

Tabela 6. Médias dos valores de lactose (g/100g) em amostras de leite cru refrigerado armazenadas durante 16 dias em diferentes temperaturas

Tempo (dias)	Temperatura			
	3°C	11°C	17°C	25°C
1	4,54aC	4,54aC	4,55aC	4,55aB
4	4,56aAB	4,56aA	4,56aA	4,56aA
7	4,56abAB	4,57aA	4,56abAB	4,55bAB
10	4,55aB	4,55aB	4,55aBC	4,55aB
13	4,56abA	4,57aA	4,56bAC	4,55bAB
16	4,56abAB	4,56aA	4,55bC	4,53cC

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes nas linhas diferem entre si pelo teste de Duncan ($P < 0,05$).

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes nas colunas diferem entre si pelo teste de Duncan ($P < 0,05$).

Tabela 7. Médias dos valores de extrato seco total (EST) (g/100g) em amostras de leite cru refrigerado adicionadas de bronopol e armazenadas durante 16 dias em diferentes temperaturas

Tempo (dias)	Temperatura			
	3°C	11°C	17°C	25°C
1	12,09bB	12,13aA	12,14aA	12,12abA
4	12,14aA	12,13aA	12,12aA	12,09bAB
7	12,14abA	12,13abA	12,16aA	12,12bA
10	12,14abA	12,13abA	12,15aA	12,11bA
13	12,15aA	12,13aA	12,15aA	12,06bB
16	12,15aA	12,15abA	12,16aA	12,11bA

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes nas linhas diferem entre si pelo teste de Duncan ($P < 0,05$).

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes nas colunas diferem entre si pelo teste de Duncan ($P < 0,05$).

Efeito da temperatura...

Tabela 8. Médias dos valores de extrato seco desengordurado (ESD) (g/100g) em amostras de leite cru refrigerado armazenadas durante 16 dias em diferentes temperaturas

Tempo (dias)	Temperatura			
	3°C	11°C	17°C	25°C
1	8,68aC	8,68aC	8,70aBC	8,69aBC
4	8,71aB	8,72aB	8,72aA	8,72aA
7	8,72aAB	8,73aAB	8,72abAB	8,70bAB
10	8,71aB	8,71aB	8,71aAB	8,71aA
13	8,73aA	8,74aA	8,72aA	8,71bA
16	8,71abB	8,71aB	8,69bC	8,67cC

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes nas linhas diferem entre si pelo teste de Duncan (P<0,05).

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes nas colunas diferem entre si pelo teste de Duncan (P<0,05).

Mesmo não havendo diferença em relação ao tempo e à temperatura de armazenamento para as análises de composição química, uma vez que a mesma amostra é utilizada tanto para a análise de composição quanto para a análise de CCS, faz-se necessário atender às mesmas exigências de tempo e temperatura das amostras destinadas à CCS.

Os resultados encontrados neste trabalho sugerem a possibilidade de prolongar a vida útil das amostras de leite cru refrigerado sem comprometer a confiabilidade dos resultados.

CONCLUSÕES

Amostras de leite cru refrigerado destinadas à análise de CBT, adicionadas do conservante azidiol, podem ser analisadas por até 16 dias após a coleta, quando armazenadas em temperaturas de 3°C e 11°C, e por até 10 dias, quando armazenadas a 17°C, sem que ocorram diferenças significativas nos resultados.

Amostras de leite cru refrigerado destinadas às análises de CCS e de composição química, adicionadas do conservante bronopol, podem ser analisadas por até 16 dias após a coleta, quando armazenadas em temperaturas de 3°C e 11°C, e por até sete dias, quando armazenadas a 17°C, sem que ocorram diferenças significativas nos resultados.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Instrução Normativa n.º 62, de 29 de dezembro de 2011. Aprova o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. *Diário Oficial da União*, Brasília, 30 dez. 2011. Seção 1.

BRITO, J.R.F.; SOUZA, G.N.; FARIA, C.G.; MORAES, L.C.D. *Procedimentos para coleta e envio de amostras de leite para determinação da composição e das contagens de células somáticas e de bactérias*. Juiz de Fora: Embrapa gado de leite, 2007. 8p. (Circular técnica, n.92).

CASSOLI, L.D.; MACHADO, D.F.; COLDEBELLA, A. Métodos de conservação de amostras de leite para determinação de contagem bacteriana total por citometria de fluxo. *Rev. Bras. Zootec.*, v.39, p.434-439, 2010.

GONZALO, C.; MARTÍNEZ, J.R.; CARRIEDO, J.A.; SAN PRIMITIVO, F. Fossomatic cell-counting on ewe milk: comparison with direct microscopy and study of variation factors. *J. Dairy Sci.*, v.86, p.138-145, 2003.

LEITE MO. *Fatores intereferentes na análise eletrônica da qualidade do leite cru conservado com azidiol líquido, azidiol comprimido e bronopol*. 2006. 63f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

MARTINS, M.E.P.; NICOLAU, E.S.; MESQUITA, A.J. *et al.* Conservantes bronopol e azidiol: influência do binômio tempo/temperatura na contagem bacteriana total do leite cru. *Cienc. Anim. Bras.*, v.10, p.627-633, 2009.

PAULA, M.C.; RIBAS, N.P.; MONARDES, H.G. *et al.* Contagem de células somáticas em amostras de leite. *Rev. Bras. Zootec.*, v.33, p.1303-1308, 2004.

R DEVELOPMENT core team: R: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2015.

SÁNCHEZ, A.; SIERRA, D.; LUENGO, C. *et al.* Influence of storage and preservation on somatic cell count and composition of goat milk. *J. Dairy Sci.*, v.88, p.3095-3100, 2005.

SOUZA, G.N.; FARIA, C.G.; RIOS, R.J. Efeitos da temperatura e do tempo de armazenamento sobre a contagem total de bactérias em amostras de leite cru conservadas com azidol. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 23., 2006, Juiz de Fora. *Anais...* Juiz de Fora: Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", 2006. v.61, p.358-361.

SOUZA, G.N.; SILVA, M.R.; SOBRINHO, F.S. *et al.* Efeito da temperatura e do tempo de armazenamento sobre a contagem de células somáticas no leite. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.57, p.830-834, 2005.

WHOLE milk: determination of milk fat, protein and lactose content. Guidance on the operation of mid infrared instruments. Brussels: IDF, 2000. 8p. (IDF Standard, 141C.).

ZENI E. *Efeito do binômio tempo e temperatura de conservação sobre o aspecto de qualidade higiênico-sanitário de leite de cabra*. 2014. 58f. Dissertação (Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e derivados) - Faculdade de Farmácia de Bioquímica, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG.