

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA GOIANO – CÂMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

INFLUÊNCIA DO MÉTODO DE COLETA NA COMPOSIÇÃO
QUÍMICA E CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS DO
LEITE DE VACAS DE ALTA PRODUÇÃO

Autora: Jakeline Fernandes Cabral

Orientador: Dr. Marco Antônio Pereira da Silva

RIO VERDE - GO

dezembro - 2012

INFLUÊNCIA DO MÉTODO DE COLETA NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS DO LEITE DE VACAS DE ALTA PRODUÇÃO

Autora: Jakeline Fernandes Cabral

Orientador: Dr. Marco Antônio Pereira da Silva

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Rio Verde – Área de concentração Zootecnia.

RIO VERDE – GO

dezembro – 2012

C12i

CABRAL, Jakeline Fernandes

Influência do método de coleta na composição química e contagem de células somáticas do leite de vacas de alta produção./Jakeline Fernandes Cabral- Rio Verde-2012.

45 f.: il.;

Dissertação (Mestrado em Zootecnia) apresentada ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Câmpus Rio Verde – 2012.

1. Procedimento-coleta 2. Número de ordenha 3. Leite in natura

Gilmar José Terra. CRB1 2524

CDU 637.11

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CÂMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**INFLUÊNCIA DO MÉTODO DE COLETA NA COMPOSIÇÃO
QUÍMICA E CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS DO
LEITE DE VACAS DE ALTA PRODUÇÃO**

Autora: Jakeline Fernandes Cabral

Orientador: Marco Antônio Pereira da Silva

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia – Área de concentração
Zootecnia – Zootecnia e Recursos Pesqueiros.

APROVADA em 14 de dezembro de 2012.

Prof. Dr. Edmar Soares Nicolau

Avaliador externo

UFG/Goiânia

Prof^a. Dr^a. Priscila Alonso dos Santos

Avaliadora interna

IF Goiano/RV

Prof. Dr. Marco Antônio Pereira da Silva

Presidente da banca

IF Goiano/RV

Aos meus pais Obrensair Fernandes da Silva e Ivanilda Gomes da Silva,
e aos meus irmãos Vinícius Fernandes Cabral e Bárbara Fernandes Martins,
pela confiança

Dedico

Nunca deixe que digam que não vale a pena acreditar num sonho que se tem, ou que seus planos nunca vão dar certo, ou que você nunca vai ser alguém.

Tem gente que está do mesmo lado que você, mas deveria estar do lado de lá. Tem gente que machuca os outros, tem gente que não sabe amar. Tem gente enganando a gente, veja nossa vida como está, mas eu sei que um dia a gente aprende, se você quiser alguém em quem confiar. Confie em si mesmo.

Quem acredita sempre alcança!

Renato Russo/Flávio Venturini

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder saúde, força de vontade para que eu pudesse concluir minhas metas e objetivos, por ter colocado pessoas especiais no meu caminho e que me ajudaram nesta caminhada.

Aos meus pais Obrensair Fernandes da Silva e Ivanilda Gomes da Silva, por mais um incentivo, apoio e acima de tudo o amor incondicional de pais para filha. É com vocês que realizo mais um sonho.

Aos meus irmãos Vinícius Fernandes Cabral e Bárbara Fernandes Martins, pelo companheirismo nesta vida.

Ao meu orientador, pela paciência, dedicação, amizade e pelo carinho que ao longo do tempo foi crescendo, entre “tapas e beijos” estamos chegando à reta final de um trabalho e juntos conseguimos realizar, embora discordássemos de algumas ideias, sempre entramos em um acordo conciliável no final. Muito obrigada Professor Marco Antônio Pereira da Silva, por fazer parte da minha vida nesta caminhada entre flores e espinhos conseguimos chegar ao final desta jornada.

Aos meus amigos e companheiros de trabalho. Thiago Soares Carvalho, que ao longo do tempo encontrei um grande amigo, de confidências e muitas aventuras, experiências que jamais serão esquecidas, o ônibus quebrado perdidos no meio dos índios, e a experiência de quase morte, muitas histórias para contar quando chegarmos à velhice, o meu muito obrigada por sua amizade. Rafaella Belchior Brasil, a menina esforçada e apavorada que deixava os companheiros loucos nas horas das coletas, mas era nosso porto seguro, a nossa chefe. Julliano Costa Garcia, o teimoso, mais sempre disposto a ajudar quando um de nós precisava. Cristiane Isabô Giovaninni, a menina que tem nome de atriz famosa, as coisas entre nós saía faísca, mesmo assim foi uma pessoa especial que contribuiu para que pudéssemos concluir o nosso trabalho, agradeço muito a todos, pois sem vocês este trabalho não poderia se tornar realidade.

Ao Instituto Federal Goiano - Câmpus Rio Verde que nos concedeu a oportunidade de ensino de qualidade. A todos os funcionários e servidores do Câmpus Rio Verde, que nos ajudaram.

Às professoras Karen Martins Leão, Kátia Cylene Guimarães e a minha coorientadora Priscila Alonso dos Santos, pelo conhecimento repassado e aprendido que obtivemos.

Ao Laboratório de Qualidade do Leite do Centro de Pesquisa em Alimentos da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, nas pessoas de Rodrigo Balduino Soares Neves, Silmara Dâmaso Fernandes Santana, Elias Magalhães, Bianca dos Santos e em especial ao Prof. Dr. Edmar Soares Nicolau. Sem as análises eletrônicas, material concedido e a paciência, este trabalho não seria realizado.

À Fazenda Santa Rosa, do proprietário Leonardo e funcionários, Wendel e Marcos pela paciência e aprendizado com todos vocês.

À Fazenda Medalha do proprietário Wagner e funcionários Maria, Almir Júnior, Paulo, Rogério pela amizade que cresceu durante o tempo de coleta, pela oportunidade, vocês fazem parte da minha conquista.

Ao meu companheiro Rogério Favareto, que sempre esteve ao meu lado nos momentos bons e ruins sempre me apoiando. Suas críticas foram o alicerce para que eu pudesse obter o sucesso e conseguir enxergar com mais clareza. A sua experiência me ajudou a superar obstáculos, a sua contribuição foi muito importante para que eu pudesse realizar esta etapa da minha vida, foi a partir do seu exemplo que surgiu à vontade de correr atrás de mais um título, obrigada por sempre estar ao meu lado e fazer parte da minha vida.

À minha amiga Juliana Donadon, pessoa com quem me identifiquei, essa realmente posso chamar de amiga, a menina de coração puro, sábia e a pessoa que muito me ajudou.

Aos meus amigos Professores e suas esposas, que me ensinaram muito nessa vida, Anísio Rocha, João Cleber Modernel, José Wéselli de Sá Andrade, Rogério Mauro e Marconi Batista Teixeira.

Obrigada!

BIOGRAFIA DO AUTOR

Jakeline Fernandes Cabral, filha de Ivanilda Gomes da Silva e Obrensair Fernandes da Silva. Nasceu em 24 de fevereiro de 1988 na cidade de Rio Verde no sudoeste do Estado de Goiás, possui dois irmãos, Vinícius Fernandes Cabral e Bárbara Fernandes Martins. Deu início em sua formação acadêmica no Centro Federal de Educação Tecnológica de Rio Verde – Goiás, no curso Técnico em Zootecnia no ano de 2004, trabalhou na área de formação, com atuação em casa agropecuária em vendas de produtos veterinários em 2006. Em 2007, iniciou a Graduação em Zootecnia no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Rio Verde e concluiu o curso em 2011. No segundo semestre de 2011, iniciou o Mestrado no Programa de Pós Graduação em Zootecnia na área de concentração Produção Animal no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Rio Verde.

ÍNDICE

	Página
RESUMO.....	xi
ABSTRACT	xiii
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	6
CAPÍTULO 1	9
Procedimento de coleta de amostra de leite e número de ordenha com relação à composição química e células somáticas do leite <i>in natura</i>	9
Resumo	9
Abstract.....	10
Introdução	11
Material e Métodos	13
Propriedades.....	13
Alimentação das vacas	14
Coleta de Amostras	14
Análises Eletrônicas da Composição Química do Leite	15
Contagem de células somáticas	15
Análise Estatística.....	16
Resultados e Discussão	17
Referências Bibliográficas	28

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Tabela 1 - Valores médios da composição química e CCS de amostras de leite <i>in natura</i> , obtidas em sistemas leiteiros de alta produção em duas ordenhas diárias.	18
Tabela 2 - Valores médios da composição química e CCS de amostras de leite <i>in natura</i> , obtidas em sistemas leiteiros de alta produção em três ordenhas diárias.....	19
Tabela 3 - Correlação simples de produção de leite e CCS em relação a composição química de leite de amostras de duas e três ordenhas.....	22

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1 – Resultados médios da produção de leite em Propriedades Leiteiras com duas e três ordenhas.	21

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

%	Porcentagem
CCS	Contagem de células somáticas
CS	Células Somáticas
DIC	Delineamento Inteiramente Casualizado
ESD	Extrato Seco Desengordurado
EST	Extrato Seco Total
G	Gramas
IN 62	Instrução Normativa nº 62/2011
L	Litros
M	Metros
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
mL	Mililitros
Mm	Milímetros
Ns	Não significativo
RS	Rio Grande do Sul
SISVAR	Sistema de Análise Estatística

RESUMO

Os componentes do leite podem ser alterados pela interferência do ambiente, da fisiologia e do metabolismo animal. Na coleta de amostras para realização de análises laboratoriais, deve-se preocupar com a legitimidade e segurança no momento da coleta das amostras. As amostras de leite *in natura* coletadas para as análises de composição química e contagem de células somáticas podem sofrer vários tipos de alterações antes de chegar ao laboratório, porque o método de coleta, o horário, a temperatura de armazenamento, o transporte e a homogeneização do leite para a completa dissolução do conservante, podem causar variações dos componentes. Observando as variações que ocorrem por causa dos diferentes sistemas de ordenha, objetivou-se neste trabalho, determinar qual método de amostragem de leite *in natura* apresenta resultados com menor variação e elucidar a diferença da composição físico-química entre o número de ordenhas. Foram coletadas amostras de leite *in natura* em duas propriedades leiteiras do sudoeste Goiano em frascos de 40 mL contendo conservante Bronopol. Na Propriedade I, em que eram realizadas duas ordenhas diárias, foram obtidos dois tipos de amostras de leite de cada vaca, correspondente ao método de amostragem, que foram denominados de *pool* de amostra e amostra independente. O procedimento de amostragem na propriedade I, compreende primeiramente na coleta de uma alíquota de 2/3 de leite da capacidade do frasco na primeira ordenha e 1/3 de leite na segunda ordenha do dia coletada no mesmo frasco, perfazendo a mistura do leite do período da manhã e da tarde este método é o *pool* de amostra. Conforme foi realizada a coleta de *pool* de amostra, uma amostra independente da mesma vaca foi coletada, sendo que esta amostra corresponde a 100% de leite da capacidade do frasco, em cada ordenha foi coletado um frasco, sendo um na ordenha da manhã e um segundo frasco no período da tarde, para cada vaca ordenhada, totalizando em três frascos de amostra de leite. Na

Propriedade II, eram realizadas três ordenhas diárias, e as amostras foram coletadas conforme os métodos utilizados na propriedade I. O Procedimento de coleta de amostra correspondia em uma alíquota parcial de leite *in natura* em cada ordenha, representando o *pool* todas as alíquotas de leite, sendo armazenadas no mesmo frasco, perfazendo uma mistura do leite das três ordenhas diárias, assim preenchendo 1/3 de leite do frasco na primeira ordenha, 1/3 de leite no mesmo frasco na segunda ordenha e 1/3 de leite do frasco na terceira ordenha, preenchendo a capacidade total do frasco de 40 mL. As amostras independentes foram coletadas junto com o *pool* de amostras, em cada ordenha, coletou-se uma amostra correspondendo a 100% de leite da capacidade total do frasco, para cada vaca ordenhada totalizando em quatro frascos de amostras de leite. As amostras foram avaliadas através do princípio analítico que se baseia na absorção diferencial de ondas infravermelhas pelos componentes do leite. Os resultados das análises laboratoriais das amostras de leite devem ser os mais reais e confiáveis possíveis, porque os laticínios na atualidade pagam pela qualidade e é de fundamental importância à seguridade dos resultados para que fraudes e equívocos nos pagamentos para os produtores não sejam cometidos, além de desmerecer a qualidade do leite produzido e processado nas propriedades leiteiras e nas redes de beneficiamento.

Palavras-chave: procedimento de coleta, número de ordenha, leite *in natura*

ABSTRACT

The milk components may be changed due interference from the environment, physiology and animal metabolism. In collecting samples for laboratory analyzes should worry about the safety and legitimacy of the results issued. Samples of raw milk collected for analysis of chemical composition and somatic cell count, can suffer various kinds of changes before arriving at the laboratory, because the collection method, time, temperature, storage, transport and homogenization milk for complete dissolution of the preservative, may cause component variations. Observing the changes that occur due to various factors above, the objective of this work was to determine which method of sampling raw milk presents reliable results and elucidate the variation of physical-chemical composition between the numbers milkings. Samples were collected from fresh milk from two dairy Properties Southwest Goiás in 40 mL vials containing Bronopol. Together with the pool samples were collected at each milking isolated totaling 100% of the vial. The samples were evaluated using the analytical principle which is based on infrared differential absorption of the components of milk. The results of milk samples should be as real and reliable possible, because as dairy products currently pay for quality is of fundamental importance to the security of the results for that fraud and errors in payments to producers are not committed, and belittle the quality of milk produced on dairy farms and in processing networks. Fat content in different milking systems, milking time and collection methods, results have changed. What should be considered as performing a partial collection of milk from each milking day and hold a pool of samples to ensure the results.

Key-words: dairy property, number of milking, milk components

INTRODUÇÃO GERAL

Os componentes do leite podem ser alterados pelas interferências do ambiente, da fisiologia e do metabolismo animal. Observando estes critérios o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) revogou a Instrução Normativa nº 51 de 2002, reformulou e estabeleceu a Instrução Normativa nº 62 em 2011 (IN 62/2011), que determina e fixa a identidade e requisitos mínimos de qualidade que deve apresentar o leite bovino destinado ao consumo humano.

Os padrões mínimos na composição do leite estabelecidos pela IN 62/2011, para proteína, gordura e extrato seco desengordurado são de 2,9%, 3,0% e 8,4% respectivamente e contagem de células somáticas máxima de 600 mil CS/mL (Brasil, 2011).

O leite possui características físico-químicas que podem variar segundo fatores como: raça, alimentação, individualidade do animal, estágio de lactação, idade, temperatura ambiental, estação do ano, fatores fisiológicos, patológicos, quartos mamários, porção da ordenha e intervalo entre ordenhas (Ribas et al., 2004).

A raça dos animais em lactação está diretamente relacionada com a composição química do leite, e existe entre raças uma diferença discrepante na composição, que pode alterar a quantidade e qualidade do leite de vaca.

A composição do leite e a produção podem ser alteradas em função das diferentes capacidades que determinados grupos raciais formadores de rebanhos leiteiros, podendo se adaptar às diversas condições de meio ambiente (Barreto et al. 2012).

Zanela et al., (2006) observaram que os sistemas de ordenha mais especializados resultam em maior produção de leite por animal e apresentam menor contagem de CCS do leite, já os teores de gordura relatados pelo autor foram influenciados pela raça

utilizada e as porcentagem de caseína e sólidos foram afetados principalmente, pela nutrição do rebanho.

Pales et al., (2005) verificaram que quanto maior a quantidade de leite que a fêmea bovina produz, menor será a porcentagem de sólidos gordurosos e proteínas, podendo ser observado na composição química do leite de uma vaca holandesa que está no topo de produção, e apresenta médias de 88% de água e 12% de sólidos totais, já em uma vaca Jersey que produz menos leite, estes valores ficam em torno de 85,5% de água e 14,5% de sólidos totais.

Quanto ao estágio de lactação, observa-se que há uma variação na composição química e na contagem de células somáticas (CCS) do leite entre animais que se encontram no início, meio e fim da lactação. Voltolini et al. (2001), observaram que, o início e o final da lactação são as fases mais estressantes para a vaca, razão pela qual apresentará, naturalmente, elevada CCS.

A CCS reflete diretamente na qualidade do leite, por estar relacionada à mastite, no entanto animais que apresentam enfermidades como mastite subclínica podem apresentar alterações no volume de leite produzido e na qualidade do leite, estes valores são diferenciados quando comparados com animais que se encontram no início, meio e fim da lactação (Zafalon et al., 2005).

O volume e a sazonalidade de produção leiteira estão correlacionados a fatores que afetam a produção e qualidade do leite como, mastite, CCS, gordura, proteína, e lactose (Gonzalez, et al., 2004). Estes parâmetros são utilizados como forma de pagamento do leite e é de interesse das indústrias leiteiras a captação de leite junto a produtores que forneçam grandes volumes diários de leite que apresentem pequena variação sazonal da produção.

As recomendações impostas pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) têm sido ferramentas importantes para motivar os produtores a melhorar a qualidade do leite produzido. Em geral, esses incentivos por qualidade variam entre as indústrias ou cooperativas, mas a CCS e a ausência de resíduos de antibióticos são parâmetros usados para mensurar a qualidade do leite.

No sudoeste Goiano, Silva et al., (2010) verificaram maior variação nos componentes do leite no período seco. Esses pesquisadores relataram que a elevação do teor de gordura nessa época do ano pode estar relacionada ao maior fornecimento de fibra ao gado de leite, a dieta nesse período de estudo era constituída de pastagens de

Brachiaria e em alguns casos os animais eram suplementados com cana de açúcar triturada.

É necessária a realização de análises rotineiras para conhecimento da composição centesimal, no entanto conhecer cada componente é fundamental, para que possa ser estabelecido manejos nutricionais e sanitários para o bom desempenho animal, além de manter os componentes do leite dentro dos padrões estabelecidos pela legislação.

A gordura é o componente do leite que tem a maior amplitude de variação, podendo estar sujeita a dieta fornecida aos animais, podendo variar de duas a três unidades percentuais (Peres, 2001).

A gordura do leite é composta por ácidos graxos de cadeia longa e curta, Amédeo (1997), reporta que estes ácidos são provenientes da alimentação ou das reservas de gordura do organismo e oriundos dos processos de fermentação. Assim a gordura do leite é sintetizada a partir da glândula mamária e os principais precursores são o ácido acético e butírico, sendo estes ácidos graxos produtos da fermentação da dieta no rúmen (Jobim et al., 2002).

O aumento da proteína no leite está envolvido diretamente com a quantidade de concentrado consumido pelo animal, que proporciona o acréscimo de ácido propiônico no rúmen, logo o teor disponível de aminoácidos para a síntese nas glândulas mamárias aumenta (Deresz, 2001).

O crescimento microbiano no rúmen é desejável e fornece aminoácidos para as células mamárias que são imprescindíveis para a síntese de proteína do leite, desta forma as bactérias ruminais dão origem aos compostos nitrogenados e carbonos que abastecem a maior parte dos aminoácidos utilizados na síntese de proteína do leite juntamente com a concentração de ácido propiônico (Santos et al., 2001).

As alterações do teor proteico do leite são menos significativas do que as alterações de gordura em decorrência da dieta e embora influenciem a produção total, têm pequena variação no leite (Dürr, 2004).

Os níveis de lactose no leite dependem principalmente da glicose que é produzida no fígado a partir do ácido propiônico produzido no rúmen, este ácido é produzido em maior proporção quando quantidades adequadas de concentrado são fornecidas aos animais (Pereira, 2000).

De acordo com Xião & Cant (2005), cerca de 85% da glicose do corpo é direcionada para a glândula mamária para a síntese de lactose. Logo a lactose é fundamental para manter a osmolaridade do leite (Niemann et al., 2011). A secreção

lática está intimamente relacionada à síntese da lactose, há fixação de 90 litros de água sempre que 50 g da lactose forem sintetizados, tendo estreita ligação entre o nível de produção da lactose e o nível de secreção láctea (Luquet, 1990).

A associação de agentes patogênicos (bactérias, fungos) com fatores externos, resulta em uma gama de danos ao animal ocasionando a diminuição da produção de leite e podendo prejudicando o tecido secretor, ocorrendo assim variações nos componentes do leite, como consequência a redução da lactose que pode incidir pelo aumento da CCS podendo ocasionar descamação do tecido secretor (Silva et al., 2000).

As células somáticas são normalmente células de defesa do organismo que migram do sangue para o interior da glândula mamária, com o objetivo de combater os agentes causadores da mastite, podendo ser também, células secretoras descamadas, sendo que na glândula mamária infectada, as células de defesa correspondem entre 98% a 99% das células encontradas no leite (Philpot & Nickerson, 1991).

A CCS é uma ferramenta eficaz e bastante utilizada com o objetivo de monitorar a saúde da glândula mamária (Medeiros et. al., 2008) é utilizada como indicadora do nível de mastite e da presença de agentes contagiosos comprovando a importância da educação sanitária, porque a falta de higiene dentro da sala de ordenha e a carência de manejo pré-dipping e pós-dipping propiciam grande problema na obtenção do leite de boa qualidade (Langoni et al. 2009).

Além de conhecer os componentes do leite é também necessário manter a composição química dentro dos padrões estipulados pela IN 62/2011. O que torna fundamental a coleta individual de leite, para que possa ser monitorada a qualidade e a identificação de problemas do rebanho leiteiro, demonstrando que a amostragem de leite deve ser criteriosa e que as amostras possam traduzir a sua legítima composição (Reis et. al., 2007).

Sendo assim parâmetros como o período do ano e o nível de produção de cada animal, devem ser analisados e utilizados como ferramenta de auxílio ao produtor, o conhecimento desses fatores permite o manejo estratégico do rebanho, identificando pontos críticos de controle e auxiliando nas tomadas de decisão, que torna evidente a necessidade de estudos que levem ao aprofundamento dos conhecimentos e maior entendimento do assunto. Entretanto, a metodologia de coleta de amostras de leite em duas e três ordenhas em diferentes períodos do ano, devem ser consideradas para evitar erros.

Observando as variações que ocorrem pelos diversos fatores descritos acima, objetivou-se neste trabalho determinar o método de amostragem de leite *in natura* através do método de *pool* de amostras, que representa uma amostra parcial de cada ordenha misturada em um mesmo frasco de duas ou mais ordenhas e a amostra independente, que representa uma amostra de leite em 100% da capacidade do frasco, em cada ordenha, apresentam resultados confiáveis e elucidar a variação da composição química do leite *in natura* em função dos diferentes números de ordenhas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMÉDÉO, J. L'alimentation et la pathologie nutritionnelle. In: LES RENCONTRES QUALITÉ DU LAIT, I., **Rennes Annales**, p. 16 – 24, 1997.
- BARRETO, L. C. N.; LANA, A. M. Q.; FERREIRA, A. M.; LEITE, R. C.; LEITE, R. C. Composição racial, adaptação ao ambiente criatório e eficiência técnica dos rebanhos leiteiros de Itaperuna-RJ. **Revista Brasileira de Ciência e Veterinária**, v. 19, n. 1, p. 32-37, 2012.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Aprovar 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 República Federativa do Brasil, Brasília, 30 de dezembro de 2011. Seção 1, p.1-24.
- DERESZ, F. Produção de Leite de Vacas Mestiças Holandês x Zebu em Pastagem de Capim-Elefante, Manejada em Sistema Rotativo com e sem Suplementação durante a Época das Chuvas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n1, p.197-204, 2001.
- DÜRR, J.W. Programa nacional de melhoria da qualidade do leite: uma oportunidade única. In: DÜRR, J.W.; CARVALHO, M.P.; SANTOS, M.V. (Eds.) **O compromisso com a qualidade do leite no Brasil**. Passo Fundo: Editora Universidade de Passo Fundo, p.38-55. 2004.
- GONZALEZ, H.L.; FISHER, V.; RIBEIRO, M.E.R. et al. Avaliação da qualidade do leite na bacia leiteira de Pelotas, RS. Efeito dos Meses do Ano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p.1531-1543, 2004.
- JOBIM, C.C.; FERREIRA, G.A.; SANTOS, G.T.; ULYSSES, C.; & DAMASCENO, J.C. Produção e composição do leite de vacas da raça Holandesa alimentadas com feno de alfafa e de tifton-85 e silagem de milho. **Acta Scientiarum**. v. 24, n. 4, p.1039-1043, 2002.

- LANGONI, H.; SAKIYAMA, D.T.P.; GUIMARÃES, F.F.; MENOZZI, B.D.; E SILVA, R.C. Aspectos Citológicos E Microbiológicos Do Leite Em Propriedades No Sistema Orgânico De Produção. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n.11, p. 881-886, 2009.
- LUQUET, F. M. O leite, do úbere à fábrica dos laticínios. v.1. Euroagro. Publicações Europa América. (1990).
- MEDEIROS, E.S.; PINHEIRO JUNIOR, J.W.; PEIXOTO, R.M.; SILVA FILHO, A.P.; FARIA, E.B.; MOTA, R.A. Avaliação do exame microbiológico, California Mastitis Test e Somaticell® no diagnóstico da mastite subclínica em bovinos leiteiros. **Medicina Veterinária**, v.2, n.2, p.16-22, 2008.
- NIEMANN, H.; KUHLA, B. AND FLACHOWSKY, G. Perspectives for feed-efficient animal production. **Journal Animal Science** 2011, v. 89, n.43, p.44-4363, 2011.
- PALES, A.P.; SANTOS, K.J.G.; FIGUEIRAS, E.A. 3; MELO, C.S. A Importância Da Contagem De Células Somáticas E Contagem Bacteriana Total Para A Melhoria Da Qualidade Do Leite No Brasil. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos, Goiás**, ISSN 1808-8597, v.1, n.2, p. 162 - 173, 2005.
- PEREIRA, J.C. **Vacas leiteiras: aspectos práticos da alimentação**. Viçosa, MG: Aprenda Fácil. Ed. UFV, 2000.
- PERES, J. R. **O Leite Como Ferramenta Do Monitoramento Nutricional**. In: Uso Do Leite Para Monitorar A Nutrição E O Metabolismo De Vacas Leiteiras. Gráfica Da Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul, Porto Alegre. 2001.
- PHILPOT, W.N., NICKERSON, S.C.. **Mastitis: counter attack**. Naperville: Babson Bros. 150p. 1991.
- REIS, G. L.; ALVES, A. A.; LANA, Â. M. Q.; COELHO, S. G.; SOUZA, M. R.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; PENNA, C. F. A. M.; MENDES, E. D. M. Procedimentos de coleta de leite cru individual e sua relação com a composição físico-química e a contagem de células somáticas. **Ciência Rural**, v.37, n.4, p.1134-1138, 2007.
- RIBAS, N.P.; HARTMANN, W.; MONARDES, H.G. et al. Sólidos totais do leite em amostras de tanque nos estados do Paraná, Santa Catarina e São Paulo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p.2343 - 2350, 2004.
- SANTOS, F.L.; LANA, R.P.; SILVA, M.T.C.; BRANDÃO, S.C.C.; VARGAS, L.H. Produção e Composição do Leite de Vacas Submetidas a Dietas Contendo Diferentes Níveis e Formas de Suplementação de Lipídios. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.4, p.1376-1380, 2001.
- SILVA, L.F. & PRADA; 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. **Brazilian Journal Veterinae Reserch Animal Science**. v.37, n. 4, 2000.

- SILVA, M.A.P.; SANTOS, P.A.; SILVA, J.W.; LEÃO, K.M.; OLIVEIRA, A.N.; NICOLAU, E.S. Variação da qualidade do leite cru refrigerado em função do período do ano e do tipo de ordenha. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 1, p. 112-118, 2010.
- VOLTOLINI, T.V.; SANTOS, G.T.; ZAMBOM, M.A.; RIBAS, N.P.; MÜLLER, E.E.; DAMASCENO, J. C.; ÍTAVO, L. C.V.; VEIGA, D.R. Influência dos estádios de lactação sobre a contagem de células somáticas do leite de vacas da raça holandesa e identificação de patógenos causadores de mastite no rebanho. **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 4, p. 961-966, 2001.
- XIAO, C. T. & CANT, J. P. Relationship between glucose transport and metabolism in isolated bovine mammary epithelial cells. **Journal Dairy Science**. v.88, p.2794 – 2805. 2005.
- ZAFALON, L.F.; NADER FILHO, A.; AMARAL, L.A.; OLIVEIRA, J.V.; RESENDE, F.D. Alterações da Composição e da Produção de Leite oriundo de Quartos Mamários de Vacas com e sem Mastite Subclínica de acordo com o Estágio e o Número de Lactações. **Arquivo. Instituto. Biológico.**, v.72, n.4, p.419-426, 2005.
- ZANELA, M.B; FISCHER, V.; RIBEIRO, M.E.R.; JUNIOR, W.S.; ZANELA, C.; MARQUES, L.T.; MARTINS, P.R.G. Qualidade do leite em sistemas de produção na região Sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira.**, v.41, n.1, p.153-159, jan. 2006.

CAPÍTULO 1

Procedimento de coleta de amostra de leite e número de ordenha com relação à composição química e células somáticas do leite *in natura*

Resumo

A coleta de amostras de leite para realização de análises laboratoriais deve apresentar a legitimidade e segurança dos resultados emitidos. Objetivou-se no presente trabalho, determinar qual número de ordenhas e metodologia de amostragem apresenta resultados de composição química mais seguros e em qual sistema se observa menor variação dos resultados. Foram coletadas amostras de leite *in natura* nas Propriedades I e II em frascos de 40 mL contendo conservante Bronopol para comparação da composição química entre duas metodologias de coleta de amostra de leite em duas e três ordenhas. Na Propriedade I, o procedimento de *pool* de amostras foi determinado através de uma quantidade parcial de leite coletado na ordenha da manhã e na ordenha da tarde, em um mesmo frasco, sendo $2/3$ e $1/3$ respectivamente, junto com uma amostra independente que coletada em um frasco na ordenha da manhã e um frasco na ordenha da tarde, esta amostra correspondia a 40 mL de leite no frasco coletor. Na propriedade II o procedimento de *pool* correspondia em uma quantidade parcial de leite coletado na ordenha da manhã, tarde e noite em apenas um frasco, sendo $1/3$, $1/3$ e $1/3$ respectivamente. Na Propriedade I, coletaram amostras de leite de 50 vacas distribuídas ao acaso em três tratamentos com duas repetições totalizando 300 amostras. Na Propriedade II, foram utilizadas amostras de leite de 26 vacas, distribuídos ao acaso em quatro tratamentos coletadas em três repetições totalizando 312 amostras. Os componentes químicos do leite foram determinados através do princípio analítico que se baseia na absorção diferencial de ondas infravermelhas pelos componentes do leite. Avaliando os dados obtidos através do coeficiente de variação (CV), observou-se que houve uma precisão experimental, porque a maioria dos resultados apresentaram uma pequena variação no estudo. Resultados da composição química das amostras de leite *in natura* coletadas em diferentes sistemas que realizavam duas e três ordenhas apresentaram teores de proteína, lactose, ESD e CCS significativos em qualquer ordenha do dia tanto no período da manhã, tarde e noite quando realizadas coletas de amostras, através do método de coleta independente, quando o objetivo é analisar estas

variáveis, apenas uma amostra de leite é suficiente para avaliar os resultados químicos do leite.

Palavras-chave: leite *in natura*, métodos de amostras, *pool* de amostras, amostras isoladas.

Abstract

Collection of samples for laboratory analyzes must provide the legitimacy and security results issued. Therefore this work had as objective determine which interval between milkings and sampling methodology results show safer chemical composition and in which system there is a lowest variation in results. Samples were collected from fresh milk in the Properties I and II in 40 mL vials containing Bronopol to compare the chemical composition between two methods of sample collection in two and three milkings. In Property I collected samples of milk fifty cows randomly allotted to three treatments with two replications totaling 300 samples. Property II were used in milk samples from twenty-six cows were distributed in four treatments in three replicates collected totaling 312 samples, the animals were randomly distributed. The chemical components of milk were determined using the analytical principle which is based on infrared differential absorption of the components of milk. According to data obtained from the evaluation of the coefficient of variation (CV), can confirm that there was an experimental precision, because the majority showed a small variation which shows a small error in the study. Results of the chemical composition of the raw milk samples collected in different systems showed levels of protein, lactose, ESD and SCC equal in any milking of the day. For when the goal is to analyze these variables only one milk sample is sufficient to evaluate the results. However, different systems of property management, milking schedules and collection methods interfere with fat content.

Key-words: fresh milk, pool, isolates samples, period

Introdução

As amostras de leite *in natura* coletadas para as análises de composição química e contagem de células somáticas (CCS) podem sofrer vários tipos de alterações antes de chegar ao laboratório, porque o método de coleta, o horário, a temperatura de armazenamento, o transporte e a homogeneização do leite para a completa dissolução do conservante, podem causar variações dos componentes.

Os fatores mais comuns de variação dos componentes do leite são: individualidade do animal, raça, alimentação, estágio de lactação, idade, temperatura ambiental, estação do ano, fatores fisiológicos (gestação, ciclo estral), patológicos (mastite), persistência de lactação, tamanho da vaca, quartos mamários, porção da ordenha e intervalo entre ordenhas (Weiss et al., 2002).

Embora diversos fatores possam afetar a composição do leite, é de extrema importância reparar os erros e evitar qualquer tipo de adulteração que possa ocorrer no momento da coleta. A detecção dos pontos críticos que afetam a qualidade e a produção do leite é uma ferramenta importante de controle no rebanho.

Para que seja possível manter a legitimidade das amostras, as mesmas devem ser padronizadas, pois, a influência do tipo de ordenha que o leite é obtido (mecânica ou manual) com o método que a amostra foi coletada pode alterar o resultado da composição química do leite (Reis et al., 2007).

Considerando alguns critérios como o intervalo entre ordenhas e método de coleta de amostras de leite com objetivo de realizar análises laboratoriais, é possível observar que há uma variação na composição do leite, segundo (Friggens et al., 2001) o componente do leite que apresenta a maior variabilidade é a gordura já a proteína e lactose não diferem conforme os critérios avaliados, considerando então que apenas uma amostra isolada de leite é suficiente para obter resultados confiáveis quando aborda estas variáveis.

Avaliando a qualidade do leite e levando em consideração critérios como coleta fracionada de amostra de leite em sistemas automáticos de ordenha, observa-se que há um alto grau de interferência em alguns componentes do leite (Nielsen et al., 2005), porém para avaliar a qualidade do leite deve levar em consideração o manejo empregado nas propriedades e o tipo de ordenha.

É possível afirmar que há uma variação em alguns componentes do leite conforme o método em que a amostra de leite é obtida, o tipo de ordenha que é empregada na propriedade, se manual ou mecânica, e o intervalo entre ordenhas de oito ou doze horas).

Neste contexto, objetivou-se neste trabalho determinar se dois procedimentos distintos de coleta de amostras de leite como *pool* de amostra e amostras independentes interferem na composição química e contagem de células somáticas do leite *in natura*. Se diferentes números de ordenhas, ocasiona uma variação da composição química do leite das amostras quando coletadas em diferentes horários do dia e qual método de amostragem proporciona segurança para a realização das análises laboratoriais.

Material e Métodos

A pesquisa foi realizada em duas propriedades leiteiras na cidade de Rio Verde no sudoeste do Estado de Goiás, conforme as normas éticas e aprovado pela Comissão de Ética e Biossegurança da instituição. A região é de clima tropical, com altitude de 740 m e índice pluviométrico anual médio de 769 mm, com dois períodos distintos: chuvoso nos meses de outubro a abril e seco de maio a setembro. A pesquisa aconteceu no período da entressafra nos meses de maio a outubro de 2012.

A região apresenta relevo pouco declivoso e latossolo vermelho, propiciando o plantio de culturas anuais, bem como a criação de rebanho bovino.

Propriedades

Na propriedade I, o rebanho era composta por 90 vacas mestiças e as ordenhas eram realizadas em dois períodos do dia, às 5h30 e às 16h30. As vacas eram divididas em três lotes mantendo o critério de produção, sendo o mais produtivo (> 20 litros) o de média produção (15 a 20) e o menos produtivo (< 15 litros). Na ordenha da tarde durante o período experimental os lotes das vacas entravam de forma contrária, o menos produtivo (< 15 litros) o de média produção (15 a 20 litros) o mais produtivo (> 25 litros) objetivando aumentar o intervalo entre ordenhas das vacas de alta produção.

A ordenhadeira era do tipo escama de peixe sem fosso (sistema rústico), realizada em circuito fechado com seis conjuntos de teteiras, contendo coletores individuais com retorno.

Utilizou-se o manejo pré-ordenha tradicional, que realiza o teste de caneca de fundo preto telado usando os três primeiros jatos de leite para diagnóstico de mastite clínica, uso de solução pré-dipping à base de hipoclorito de sódio 5%, secagem com papel toalha e acoplagem do conjunto de teteiras. No pós-dipping, utilizava-se iodo glicerinado a 0,25%.

Na Propriedade II, o rebanho era composto por 180 vacas mestiças, realizando três ordenhas diárias, a primeira ordenha era iniciada no período das 4h da manhã, a segunda ordenha às 12 horas e a terceira ordenha às 18 horas. As vacas eram divididas em lotes e ordenhadas de acordo com a produção, tal ordem continha vacas de alta produção (> 20 litros) que correspondia ao primeiro lote, o segundo lote vacas de média

produção (15 a 20 litros) e o terceiro lote vacas de menor produção (< 15 litros). A propriedade dispunha de ordenha mecânica automática, tipo escama de peixe realizada em circuito fechado, possuía uma linha de ordenha com doze conjuntos de teteiras com coletores individuais para mensurar a produção diária de leite e de coletas de amostras.

O manejo de preparação das vacas para a ordenha diária prevalecia o método tradicional, que realizava o teste de caneca de fundo preto usando os três primeiros jatos de leite, o pré-dipping com toalhas embebidas em solução desinfetante bactericida a base de Di(aminopropil) laurilamina solução a 30%, era utilizado uma ponta da toalha para cada teto e posteriormente para a secagem do teto, utilizava-se os cantos do verso da toalha, após o manejo de higienização acoplava-se o conjunto de teteiras e realizava a ordenha ininterrupta do leite.

Após o término da ordenha, a ordenhadeira (automática) sacava o conjunto de teteira e a produção de leite estimada em kg era exibida no leitor digital individual da ordenhadeira. Após a realização da ordenha realizava-se o pós-dipping com iodo a 0,25%.

Alimentação das vacas

O período experimental ocorreu durante a entressafra, de tal modo que a estiagem teve duração de seis meses, neste período as vacas foram confinadas nas duas propriedades leiteiras. Na Propriedade I, as vacas eram alojadas em currais coletivos com sombrites e na propriedade II os animais eram alojados em free-stall.

As vacas da Propriedade I, durante o período experimental receberam silagem de milho e concentrado à base de caroço de algodão, farelo de soja, germe de milho, ureia, pré-mix vitamínico e mineral e água *ad libitum*. Na Propriedade II, a dieta era composta por silagem de milho e concentrado com milho, farelo de soja, pré-mix vitamínico e mineral, ureia e água *ad libitum*.

Coleta de Amostras

Foram coletadas amostras de leite *in natura* nas Propriedades I e II, em frascos de 40 mL contendo conservante Bronopol.

Na Propriedade I, a ordenha era realizada duas vezes, observou-se, meses anteriores, que a variação do volume de leite produzido diariamente obedecia à seguinte proporção: 2/3 pela manhã e 1/3 pela tarde. Assim, a amostragem do *pool* foi realizada respeitando as mesmas proporções. Foram obtidas amostras de leite em 2/3 do frasco na primeira ordenha e 1/3 de leite do frasco na segunda ordenha que representava o *pool* de amostra. As amostras independentes correspondentes a 100% de leite do frasco foram coletadas juntamente com o *pool* em cada ordenha do dia (manhã e tarde). Para cada vaca ordenhada se obteve três amostras de leite (uma amostra de *pool*, uma amostra da manhã e uma amostra da tarde).

Na Propriedade II, obteve uma amostra parcial de leite *in natura* de cada ordenha (três ordenhas diárias) que representava um *pool*, obedecendo a proporção: 1/3 de leite pela manhã, 1/3 de leite pela tarde e 1/3 de leite a noite adicionadas em um mesmo frasco de 40 mL. Junto com o *pool* foi coletada uma amostra independente em cada ordenha perfazendo 100% de leite do frasco. Totalizando em quatro amostras de leite (uma amostra de *pool*, uma amostra da manhã, uma amostra de tarde e uma amostra da noite) para cada vaca ordenhada.

Análises Eletrônicas da Composição Química do Leite

Os teores de gordura, proteína, lactose e extrato seco desengordurado (ESD) foram determinados através do princípio analítico que se baseia na absorção diferencial de ondas infravermelhas pelos componentes do leite, utilizando o equipamento Milkoscan 4000 (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark). Os resultados foram expressos em porcentagem (%).

Contagem de células somáticas

A análise de células somáticas (CS), cujo princípio analítico se baseia na citometria de fluxo foi realizada através do equipamento Fossomatic 5000 Basic (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark). O resultado foi expresso em CS/mL.

Análise Estatística

Para comparação da composição química entre as metodologias de amostragem em duas ordenhas diárias (Propriedade I) e em três ordenhas diárias (Propriedade II), foram coletadas amostras de leite na propriedade I de 50 vacas distribuídas ao acaso em três tratamentos com duas repetições totalizando 300 amostras. Na Propriedade II, foram coletadas amostras de leite de 26 vacas distribuídas ao acaso em quatro tratamentos com três repetições, totalizando 312 amostras.

Os tratamentos foram analisados através do Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) e as médias comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de significância utilizando programa estatístico SISVAR (Sistema de Análise Estatística), (Ferreira, 2003).

Para verificar a relação entre as variáveis da composição química do leite com a produção de leite e CCS, foi efetuada a correlação simples entre variáveis através do programa ASSISTAT, segundo Silva & Azevedo (2009), aplicando do Teste t aos níveis de 5% e 1% de significância.

Resultados e Discussão

Os resultados médios da composição química e CCS das amostras de leite coletadas sob diferentes métodos de amostragem (*pool* de amostras, amostras independentes do período da manhã, tarde e noite) e número de ordenhas diárias duas e três ordenhas são apresentados na Tabela 1 e Tabela 2.

De acordo com os dados obtidos e avaliação do coeficiente de variação (CV), foi possível confirmar que houve uma precisão experimental, visto que 50% dos resultados obtidos apresentaram uma pequena variação, demonstrando que as variáveis que apresentaram maior instabilidade na Propriedade I foram a produção de leite, gordura e CCS com CV de 28,45%; 23,76% e 22,89% respectivamente (Tabela 1) e na Propriedade II, as variáveis com maior variação foram a gordura e CCS com CV de 31,84% e 24,40% respectivamente (Tabela 2), sendo que o CV ideal para animais é menor que 20%.

No período experimental, a produção de leite (kg de leite/ordenha) das vacas de alta produção, no intervalo de duas e três ordenhas apresentou resultados médios com diferença significativa 5% (Tabelas 1 e 2).

Na Propriedade I, a produção diária de leite que representa a média de *pool*, apresentou o maior valor, diferenciando significativamente ($p < 0,05$) dos períodos da manhã e da tarde que não diferiram significativamente entre si a 5% de significância, no entanto numericamente no período da manhã o volume de leite foi maior que no período da tarde. Esta diferença ocorreu por causa da média de *pool* resultar da produção média diária de leite (Tabela 1).

Os valores médios da produção de leite da Propriedade II diferiram significativamente ($p < 0,05$) (Tabela 2). A média do *pool* de amostras apresentou a maior média por representar a produção diária de leite. Na amostragem, no horário da manhã, tarde e noite houve uma redução gradativa da produção de leite, provavelmente o intervalo entre ordenha interferiu na produção de leite, que já era esperado em razão dos horários serem irregulares, apresentando 8 horas de intervalo da primeira ordenha para segunda, 6 horas da segunda ordenha para a terceira e 10 horas da terceira para a primeira do dia subsequente.

As médias da variável gordura nos diferentes métodos de amostragem analisadas em duas ordenhas, diferiram significativamente ($p < 0,05$) Tabela 1.

Tabela 1 – Valores médios da composição química e CCS de amostras de leite *in natura*, obtidas em sistemas leiteiros de alta produção em duas ordenhas diárias.

Variáveis	Propriedade I			CV (%)
	2 ordenhas			
	<i>Pool</i>	Manhã	Tarde	
Produção de leite (L)	28,62 a	14,35 b	14,27 b	28,45
Gordura (%)	3,43 ab	3,38 b	3,68 a	23,76
Proteína (%)	3,15 a	3,16 a	3,16 a	10,02
Lactose (%)	4,63 a	4,64 a	4,63 a	5,14
ESD (%)	8,77 a	8,80 a	8,80 a	5,00
CCS (x1000 CS/mL)	462 a	467 a	499 a	22,89

Letras diferentes nas linhas apresentam diferença significativa 5%. ESD: Extrato seco desengordurado. CCS: Células Somáticas. CV: Coeficiente de Variação

O teor de gordura aumentou gradativamente conforme foram realizadas as ordenhas, no período da manhã foi observada menor média de gordura comparada com o período da tarde. A média de gordura do método *pool* de amostra diferenciou dos teores de gordura dos demais períodos em que as amostras foram coletadas pelo método de amostra independente respectivamente, porque o *pool* representa a média geral dos valores dos dois períodos (Tabela 1).

Os resultados médios para o teor de gordura das amostras de leite na Propriedade II diferenciaram significativamente entre si ($p < 0,05$). O teor de gordura aumentou conforme foram realizadas as ordenhas, em ordem crescente das amostras da manhã para noite. No período da manhã, foi observada a menor média, que diferenciou das amostras dos demais períodos de coleta e apresentou resultado igual à média de *pool*, o teor de gordura do período da tarde foram iguais ao do período da noite e o de *pool* e o teor de gordura do período da noite foi igual ao resultado do período da tarde e diferenciou das demais amostras.

Este efeito provavelmente ocorre em virtude do maior volume de leite produzido pelo animal no período da manhã, logo os componentes químicos serão menores. Corroborando com os resultados do estudo de Nielsen et al., (2005) revelando que o componente do leite que tem maior amplitude de variação, quando relacionado com o intervalo entre ordenha é a gordura. Este resultado pode ser explicado pelo conhecido efeito da diluição sendo que com o aumento do volume de leite há uma diminuição dos componentes químicos (Mollenhorst et al., 2011).

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

Resultados diferentes foram observados por Lammers et al., (1996) relacionaram a nutrição com os teores de gordura e afirmaram que a redução do teor de fibra na dieta diminuiu o teor de gordura no leite.

Contradizendo os resultados do autor acima Kargar et al. (2012), ao utilizarem diferentes fontes de gordura na dieta de vacas Holandesas observaram que a produção e a gordura do leite não são afetada pela suplementação com alto nível de concentrado em relação aos níveis de forragem, os autores utilizaram uma proporção concentrado: volumoso de 66:34.

A comparação entre produção de leite e gordura demonstra que quanto maior a produção das vacas em lactação, menor a porcentagem de gordura, assim a menor média de produção de leite foi no período noturno e conseqüentemente a maior porcentagem de gordura (4,48%). O mesmo resultado foi verificado por Friggens et al. (2001), que relataram que quanto maior o volume de leite menor é o teor de gordura.

Tabela 2 – Valores médios da composição química e CCS de amostras de leite *in natura*, obtidas em sistemas leiteiros de alta produção em três ordenhas diárias.

Variáveis	Propriedade II				
	3 ordenhas				
	Pool	Manhã	Tarde	Noite	CV (%)
Produção de leite (L)	22,57a	9,55 b	7,33 c	5,69 d	2,13
Gordura (%)	3,79 bc	3,54 c	4,08 ab	4,48 a	31,84
Proteína (%)	3,45 a	3,48 a	3,50 a	3,49 a	10,31
Lactose (%)	4,68 a	4,63 a	4,65 a	4,62 a	5,34
ESD (%)	9,08 a	9,04 a	9,10 a	9,06 a	4,81
CCS (x1000 CS/mL)	241 a	241 a	332 a	318 a	24,40

Letras diferentes nas linhas apresentam diferença significativa ($p > 0,05$). ESD: Extrato seco desengordurado. CCS: Células Somáticas.

Mediante os resultados obtidos nesse estudo é possível inferir que para a coleta de amostras de leite visando a análise de gordura, a amostragem deverá ser feita

correspondente ao método de *pool* sendo coletadas as amostras de leite na proporção 2/3 e 1/3 em caso de duas ordenhas e na proporção de 1/3 de leite de cada ordenha quando for realizadas três ordenhas.

Reis et al., (2007) avaliaram os procedimentos de coleta de leite e reportaram que menores teores de gordura podem ter ocorrido pelo maior volume de leite acumulado dentro do úbere no período da manhã causando uma diluição da gordura, no entanto, os autores concluíram que para a validação dos resultados seria correto realizar um *pool* da amostra de leite por causa do valor de gordura observado de 3,81%, que apresentou valor mediano quando comparado com o teor observado nos períodos da manhã de 3,44% e no período da tarde de 4,49%. Entretanto, deve ser levado em consideração que as amostras de leite obtidas por esses pesquisadores correspondiam aos primeiros jatos de leite, assim denotando que os componentes estavam menos concentrados.

De acordo com Friggens et al. (2001), é impossível coletar amostras de leite independentes e assegurar as estimativas da porcentagem de gordura do leite diariamente em sistemas de ordenhas convencionais.

Wall & McFadden, (2008) afirmaram que as amostras de leite utilizadas em estudos para a averiguação de influências do intervalo de ordenhas e manejo de rebanho sob a composição do leite e da CCS devem sofrer uma padronização, para que seja possível a coleta de dados precisos.

Os resultados médios de proteína, lactose, ESD e CCS não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) Tabela 1 e Tabela 2. Portanto, é possível inferir que apenas uma amostra de leite obtida de qualquer período da ordenha é suficiente para a confiabilidade dos resultados emitidos para estas variáveis.

Com relação à CCS Brasil et al., (2012), verificaram que em sistemas de ordenha manual e mecânica houve uma diferença nos níveis de CCS, sendo que a ordenha mecânica do leite proporcionou aumento considerável do número de CS (545 mil CS/mL) das vacas, enquanto no leite ordenhado manualmente a CCS foi bem inferior (253 mil CS/mL).

Avaliando a composição do leite em duas e três ordenhas diárias Österman & Bertilsson (2003) observaram que as diferenças na porcentagem de gordura aumentaram, ao passo que o teor proteico do leite tende a ser mais semelhante no início e na parte final da lactação.

Os resultados das análises das amostras de leite devem ser os mais reais e confiáveis possíveis, visto que os laticínios pagam por qualidade é de fundamental

importância a seguridade dos resultados para que fraudes e equívocos nos pagamentos para os produtores não sejam cometidos, além de desmerecer a qualidade do leite produzido.

Na Figura 1, pode ser observadas as médias de produção das propriedades, sendo que na Propriedade I era realizada duas ordenhas diárias e na Propriedade II três ordenhas diárias. Foi possível observar na comparação da trajetória da produção de leite das Propriedades I e II, entre os métodos de coletas que nas duas Propriedades o comportamento da produção foi semelhante, representando uma ligeira regressão em litros, assim é possível observar que quando a prática de ordenhar é constante, com intervalos menores de oito entre ordenha ressalta que a capacidade leiteira das vacas diminui.

É possível verificar na Figura 1, que a produção de leite quando a ordenha era realizada duas vezes no dia, com intervalo de 12 horas, a média de produção manteve uma leve redução não significativa e quando a ordenha era realizada três vezes no dia com intervalos irregulares de oito, seis e dez horas respectivamente houve uma queda brusca na produção de leite, este comportamento pode ser explicado pelo maior intervalo entre a última ordenha do dia e a primeira do dia seguinte.

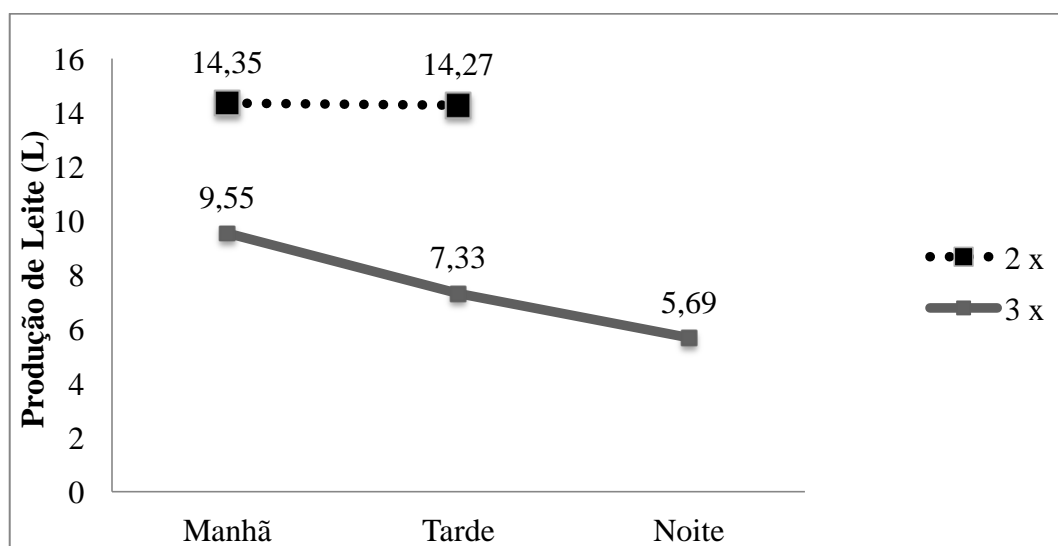


Figura 1 – Resultados médios da produção de leite em propriedades leiteiras com duas e três ordenhas.

Resultados semelhantes aos encontrados no presente trabalho foram observados por Ouweltjes (1998), que demonstrou que a relação entre a produção de leite e o

intervalo entre ordenhas de vacas leiteiras, acarreta uma produção de leite maior na ordenha da manhã do que na ordenha da tarde.

Wall & McFadden (2008), quando compararam um sistema de ordenha semelhante ao presente trabalho, com duas e três ordenhas diárias, observaram que a curva de lactação das vacas ordenhadas por três ou mais vezes ao dia mantém prolongado o pico da lactação, e que provavelmente mantém a sanidade das glândulas mamárias.

Resultados diferentes foram observados por Marnet & Komara (2008), avaliando a quantidade de ordenha realizada diariamente e a rentabilidade, observaram o sistema de ordenhar apenas uma vez ao dia para economizar tempo e flexibilidade não é o melhor para a vaca, visto que, apenas uma ordenha diária causa maior impacto sob a fisiologia das glândulas mamárias e saúde do úbere limitando o uso desse sistema.

Na Tabela 3, estão dispostos os resultados da correlação simples entre as variáveis da composição química de sistemas leiteiros dotados de duas e três ordenhas.

Tabela 3 - Correlação simples entre a produção de leite e CCS com a composição química de leite de amostras obtidas em duas e três ordenhas.

Correlação	Produção de Leite		CCS	
	2 ordenhas	3 ordenhas	2 ordenhas	3 ordenhas
Gordura	-0,2811 **	-0,2412 **	0,0642 ns	0,2061 **
Proteína	-0,3132 **	-0,0061 ns	0,2535 **	0,3102 **
Lactose	-0,0903 ns	0,0124 ns	-0,4202 **	-0,4374 **
ESD	-0,2941 **	-0,0158 ns	-0,0446 ns	-0,0570 ns
CCS	-0,0676 ns	-0,0922 ns	-	-

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$), ns não significativo ($p > 0,05$).

Nas propriedades leiteiras, com duas e três ordenhas diárias, o teor de gordura apresentou correlação negativa com o volume de produção de leite, estando relacionado ao aumento no volume de leite e a diminuição na concentração de gordura, apresentando valores altamente significativos ao nível de 1% de probabilidade.

Os resultados de correlação simples em intervalo entre duas e três ordenha com doze horas de intervalo (propriedade I) e 8 h, 6h e 12h (propriedade II) respectivamente

corroboraram com Nielsen et al. (2005) que verificaram que os teores de gordura variam quando o leite é ordenhado em intervalo de ordenhas de seis e doze horas, resultados maiores foram observados no intervalo de seis horas em relação ao resultado observado no intervalo de ordenha de doze horas.

Quando os valores de proteína são comparados entre duas ordenhas diárias a correlação com a produção de leite foi negativa com nível de significância de 1% de probabilidade, quando as amostras foram obtidas em três ordenhas diárias, a correlação entre produção e proteína foi negativa, no entanto não diferiram significativamente a 5%. Segundo Dürr, (2004) as alterações do teor proteico do leite, são menos significativas do que as alterações de gordura, embora a proteína e a gordura influenciem na produção total de leite, contudo o teor proteico tem menor variação nos resultados do que a gordura.

Os resultados de correlação simples de gordura e proteína observados em duas ordenhas diárias são negativos, com o nível de significância a 1% de probabilidade, o mesmo foi encontrado por Friggens et al. (2001), que também relataram correlação negativa das variáveis gordura e proteína com a produção de leite.

De acordo com Santos et al. (2001), o aumento da produção de leite em relação a porcentagem de gordura e a diminuição da porcentagem de proteína, tem relação com o uso de gorduras suplementares na dieta, quando há substituição de carboidratos disponíveis no rúmen por lipídios causa efeitos tóxicos aos microrganismos do rúmen, causando redução no crescimento microbiano e conseqüentemente efeito sobre o transporte de aminoácido para as glândulas mamárias, portanto a concentração de proteína do leite pode diminuir por causa da deficiência de um ou mais aminoácidos.

O teor de gordura do leite diminui com o aumento do volume de leite ordenhado, independentemente do número de ordenhas diários, porém, com relação ao teor proteico e ESD a correlação foi significativa apenas em sistema leiteiro com duas ordenhas diárias.

O teor de lactose não apresentou diferença significativa entre sistemas leiteiros de duas e três ordenhas com relação à produção de leite, devendo considerar que a produção leiteira oscila em função da variável lactose, o mesmo foi encontrado por Meyer et al. (2006), que relataram que os teores de lactose é altamente correlacionada à produção de leite, contrariando os resultados observados no presente estudo.

O estudo de Silva et al. (2000), sobre leite mastítico e leite não mastítico, revelou que no leite mastítico houve diminuição dos teores de lactose, contudo tal relação já é

esperada, a infecção leva a destruição do tecido secretor, portanto, há uma redução da síntese das glândulas mamárias levando a redução dos teores de lactose e conseqüentemente a diminuição da produção leiteira.

De acordo com Santos & Fonseca (2007), o leite que apresenta mastite, tem uma série de alterações principalmente na composição físico-química. Mendes et al, (2010), reportaram que os componentes que sofrem maiores alterações são as proteínas, sendo que a caseína diminui e as proteínas do soro aumentam, para a gordura e a lactose há uma redução de 10%.

Segundo Eifert et al. (2006) a lactose é o principal e o mais importante componente osmótico do leite, por estar associado a secreção de água e ao volume de leite produzido, além de ser um componente dependente de glicose para a sua síntese, no entanto quando há menor proporção de lactose no leite, sugere-se que provavelmente o animal esteja com deficiência de glicose, logo se observa a tendência a menor produção de leite.

Para o ESD em sistemas leiteiros de duas ordenhas a correlação é negativa e os resultados foram significativos a 1%, em três ordenhas a correlação não apresentou diferença significativa a 5%.

A correlação da CCS com a produção de leite não apresentou diferença significativa ao nível de 5% em duas e três ordenhas diárias. Numericamente a CCS das vacas em lactação teve um aumento gradativo conforme as ordenhas foram sendo realizadas, sendo que com a diminuição da produção de leite os níveis de CCS aumentaram.

Este comportamento do aumento da CCS foi diferente do encontrado por Mollenhorst et al. (2011), ao observarem que os parâmetros estudados, como a produção de leite, ordem de parto e intervalo entre ordenhas tiveram uma pequena relação, foi observado um variação muito pequena da CCS nos intervalo entre ordenhas menores que seis horas.

Os resultados encontrados por Takahashi et al., (2012), não diferiram com os do presente trabalho, sendo que não houve efeito significativo da produção sobre a variação da CCS, no entanto, quando a CCS foi comparada em função das estações do ano o efeito foi significativo, com alterações principalmente no verão, o autor relaciona este efeito com o estresse térmico que acomete os animais, tornando-os mais susceptíveis a infecções nas glândulas mamárias, no entanto autor ainda afirma que em rebanhos numeroso a CCS do animal afeta muito pouco a contagem do tanque quando

comparada a um rebanho pequeno. Que provavelmente pode ser relacionado ao nível tecnológico da propriedade (Zanela et al., 2006).

Segundo Coldebella et al. (2004), o aumento da CCS acarreta perdas absolutas na produção de leite, contudo é independente do nível de produção do animal, em que estas perdas ocorrem a partir da contagem de 17 mil CS/mL, comparando a redução da produção de leite com a CCS/mL os autores observaram que na primeira lactação houve uma redução de 0,30 kg de leite para 100.000 CS/mL e 0,61 kg para 200.000 CS/mL, enquanto as vacas na segunda lactação com CCS de 200 mil células/mL tiveram redução na produção de leite de 0,63 kg no dia 50 pós-parto, 0,92 kg no dia 150 e 1,77 kg no dia 250 pós-parto, vacas de 3ª lactação ou superior, com essa mesma CCS, tiveram redução de 0,60kg; 1,09kg e 1,85 kg, nos dias 50, 150 e 250 pós-parto, respectivamente.

Heuven, et al., (1988) avaliaram a herança da CCS e sua relação genética com a produção de leite e a ordem de partos e verificaram que a herança da contagem de células somáticas é baixa no início da lactação, e, a variação da CCS provavelmente altera a partir do segundo parto, tendo correlação com a produção de leite.

Observando a correlação entre CCS e gordura, observa-se que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) em sistemas leiteiros de duas ordenhas. Já em três ordenhas a relação entre CCS e gordura foi altamente significativa ($p < 0,01$) apresentando correlação positiva, sugerindo que, com o aumento dos teores de CCS há um aumento dos níveis de gordura.

Resultados semelhantes ao presente trabalho foram observados por Lacerda et al. (2010), relataram que quando os teores de CCS se encontravam elevados, os teores de gordura também apresentavam médias elevadas, esta relação foi observada no período de inverno quanto no período de verão

Os resultados de CCS em relação a proteína foram altamente significativos ($p < 0,01$) e apresentou correlação positiva em duas e três ordenhas respectivamente. Resultados diferentes ao do presente estudo foram relatados por Bueno et al. (2005), que observaram uma redução no nível de proteína do leite cru refrigerado, quando a CCS aumentou. Lacerda et al., (2010) obtiveram resultados semelhantes aos do presente trabalho, a relação entre proteína e CCS foram correspondentemente mais elevadas entre as propriedades com CCS aumentada.

Os valores de lactose do leite apresentaram correlação negativa com a CCS sendo altamente significativa ($p < 0,01$) em duas e três ordenhas, podendo observar com

estes resultados, que o aumento da CCS provocaram uma redução na síntese de lactose.

Resultados semelhantes ao presente estudo foram observados por Bueno et al., (2005) que verificaram redução do teor de lactose a medida que a CCS aumentou. O mesmo foi observado por Auldist, (1995) que verificou redução na concentração de lactose, relacionada a aumento da CCS.

A redução dos teores de lactose seria resultado de menor síntese deste componente do leite em glândulas mamárias infectadas e da perda de lactose da glândula para a corrente sanguínea, por causa do aumento da permeabilidade da membrana, que separa o leite do sangue, levando à excreção da mesma na urina (Pereira, 2000). Lacerda et al., (2010) reportou resultados diferentes entre a relação de lactose com a CCS, apresentando um aumento no teor de lactose .

A relação entre CCS e ESD não apresentou diferença significativa ($p>0,05$) demonstrando que provavelmente a CCS não interfere nos teores de ESD.

Lacerda et al., (2010) obtiveram resultados diferentes entre a relação da CCS com ESD, os autores afirmaram que a média de ESD aumentou quando a CCS aumentou nos períodos de verão e inverno.

A sanidade das vacas em lactação pode ocasionar alteração na composição química do leite, no entanto (Brasil et al. 2012), relataram que a incidência de mastite no rebanho resulta no aumento da CCS que é um dos principais parâmetros utilizados para avaliação da qualidade do leite, estando relacionada a diminuição das concentrações dos componentes do leite e alteração nas características sensoriais dos derivados lácteos.

Os resultados do presente estudo das Propriedades I e II apresentaram valores da composição centesimal e CCS/mL dentro dos parâmetros exigidos pela legislação (IN/62 2001) (Brasil, 2011), que estabelece que o leite produzido nas duas propriedades em sistemas diferentes de ordenha e manejo sendo uma altamente tecnificada e outra com menor tecnificação apresentaram resultados adequados garantindo a qualidade do produto comercializado nessa região.

Conclusão Geral

Os procedimentos distintos de amostragem de leite *in natura* podem apresentar teores da composição química e CCS variados, podendo superestimar e subestimar valores da composição do leite, quando coletadas em diferentes períodos do dia e com diferentes números de ordenhas.

Coleta de amostras independentes de leite é suficiente para expressar os resultados de proteína, lactose, extrato seco desengordurado (ESD) e contagem de células somáticas (CCS) em sistemas leiteiros que realizam duas e três ordenhas com intervalos diferentes ou iguais entre ordenhas, embora este método seja suficiente para determinar estas variáveis o método de *pool* de amostra também pode ser utilizado, o mesmo não apresenta alteração para estas análises.

No entanto para a variável gordura o método de coleta independente não é recomendado, há uma variação significativa dos teores de gordura em diferentes períodos do dia, afirmando que variação é maior quando a amostra é coletada em sistema leiteiro que realiza três ordenhas. Assim o indicado seria realizar o procedimento de coleta de amostra de *pool*, logo o resultado de composição apresenta uma média relativa do dia, sendo assim um resultado mais homogêneo e legítimo.

A amostragem para a emissão de laudos de qualidade do leite deve ser realizada de forma criteriosa, a fim de expressar de forma representativa, os valores médios dos constituintes químicos do leite.

Referências Bibliográficas

- AULDIST, M. J. Changes in the compositional of Milk from healthy and mastitic dairy cows during the lactation cycle. **Australian Journal of Experimental Agriculture, Melbourne**, v. 35, n. 4, p. 427 – 436, 1995.
- BRASIL, R.B.; SILVA, M.A.P.; CARVALHO, T.S.; CABRAL, J. F.; NICOLAU, E.S.; NEVES, R.B.S. Avaliação Da Qualidade Do Leite Cru Em Função Do Tipo De Ordenha E Das Condições De Transporte E Armazenamento. **Revista Instituto. Laticínio. “Cândido Tostes”**, n. 389, v.67, p. 34-42, 2012.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Aprovar 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 República Federativa do Brasil, Brasília, 30 de dezembro de 2011. Seção 1, p.1-24.
- BUENO, V. F. F.; MESQUITA, A. J.; NICOLAU, E. S.; OLIVEIRA, A. N.; OLIVEIRA, J. P.; NEVES, R. B. S.; MANSUR, J. R. G.; THOMAZ, L. W. Contagem celular somática: relação com a composição centesimal do leite e período do ano no Estado de Goiás. **Ciência Rural**, v. 35, n. 4, p. 848 – 854, 2005.
- COLDEBELLA, A.; MACHADO, P.F.; DEMÉTRIO, C.G.B.; JÚNIOR RIBEIRO, P.J.; MEYER, P.M.; CORASSIN, C.H.; CASSOLI, L.D. Contagem de Células Somáticas e Produção de Leite em Vacas Holandesas Confinadas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.3, p.623-634, 2004.
- DÜRR, J.W. Programa nacional de melhoria da qualidade do leite: uma oportunidade única. In: DÜRR, J.W.; CARVALHO, M.P.; SANTOS, M.V. (Eds.) **O compromisso com a qualidade do leite no Brasil**. Passo Fundo: Editora Universidade de Passo Fundo, p.38-55. 2004.
- EIFERT, E.C.; LANA, R.P.; LANNA, D.P.D.; LEOPOLDINO, W.M.; OLIVEIRA, M.V.M.; ARCURI, P.B.; CAMPOS, J.M.S.; LEÃO, M.I.; VALADARES FILHO, S. Consumo, produção e composição do leite de vacas alimentadas com óleo de soja e diferentes fontes de carboidratos na dieta¹. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.1, p.211-218, 2006.
- FERREIRA, D. F. Sistema de análise estatística para dados balanceados (SISVAR). Lavras: UFLA/DEX, 2003.
- FRIGGENS, N.C.; M.D. RASMUSSEN. Milk quality assessment in automatic milking systems: accounting for the effects of variable intervals between milkings on milk composition. **Livestock Production Science**. 73, 45 –54, 2001.

- HEUVEN, H.C.M.; BOVENHUIS, H. AND POLITIEK, R.D. Inheritance of Somatic Cell Count and its Genetic Relationship with Milk Yield in Different Parities. **Livestock Production Science**, 18, 115-127, 1988.
- KARGAR, S.; GHORBANI, G.R.; ALIKHANI, M.; KHORVASH, MOHAMMAD.; RASHIDI, L.; SCHINGOETHE, D.J. Lactational performance and milk fatty acid profile of Holstein cows in response to dietary fat supplements and forage:Concentrate ratio. **Livestock Science**, v. 150, n. 1–3 p. 274-283, 2012.
- LACERDA, L.M.; MOTA, R.A.; SENA, M.J. Contagem De Células Somáticas, Composição E Contagem Bacteriana Total Do Leite De Propriedades Leiteiras Nos Municípios De Miranda Do Norte, Itapecurú– Mirim E Santa Rita, Maranhão. **Arquivo Instituto Biologia**, São Paulo, v.77, n.2, p.209-215, 2010.
- LAMMERS, B. P. ; BUCKMASTER, D. R. ; HEINRICHS, A. J. A. Simple method for the analysis of particle sizes of forage and total mixed rations. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 79, n. 5, p. 922-928, 1996.
- MARNET P. G. and KOMARA M.. Management systems with extended milking intervals in ruminants: Regulation of production and quality of Milk. **Journal Animal Science** 2008, v. 86, p. 47-56.
- MENDES, C.G.; SAKAMOTO, S.M.; SILVA,JEAN, B.A.; JÁCOME, C.G.M. E LEITE, A.Í. Análises Físico-Químicas e Pesquisa de Fraude no Leite Informal Comercializado no Município de Mossoró, RN. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 2, p. 349-356, 2010.
- MEYER, P.M.; MACHADO, P.F.; COLDEBELLA, AR., CASSOLI, L.D.; COELHO, K.O.; RODRIGUES, P.H.M. Fatores não-nutricionais e concentração de nitrogênio uréico no leite de vacas da raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.1114-1121, 2006 (supl.).
- MOLLENHORST, H.; HIDAYAT, M. M.; BROEK J. VAN DEN , NEIJENHUIS F. and HOGVEEN H. The relationship between milking interval and somatic cell count in automatic milking systems. **Journal of Dairy Science**. v. 94, n. 9, 4531–4537, 2011.
- NIELSEN, N. I. LARSEN T.; BJERRING, M. AND INGVARTSEN K. L. Quarter Health, Milking Interval, and Sampling Time During Milking Affect the Concentration of Milk Constituents. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 9, 3186–3200, 2005.
- Ouweltjes,W. The relationship between milk yield and milking interval in dairy cows. **Livestock Production Science** 56, 193–201, 1998.
- PEREIRA, J. C. Vacas leiteiras: aspectos práticos da alimentação. Viçosa, MG: Aprenda Fácil. Ed. UFV, 2000.

- REIS, G. L.; ALVES, A. A.; LANA, Â. M. Q.; COELHO, S. G.; SOUZA, M. R.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; PENNA, C. F. A. M.; MENDES, E. D. M. Procedimentos de coleta de leite cru individual e sua relação com a composição físico-química e a contagem de células somáticas. **Ciência Rural**, v.37, n.4, p.1134-1138, 2007.
- SANTOS, F.L.; LANA, R.P.; SILVA, M.T.C.; BRANDÃO, S.C.C.; VARGAS, L.H. Produção e Composição do Leite de Vacas Submetidas a Dietas Contendo Diferentes Níveis e Formas de Suplementação de Lipídios. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.4, p.1376-1380, 2001.
- SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite. Barueri, SP: Manole, p 314, 2007.
- SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. A new version of the Assistat -Statistical Assistance Software. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 4., 2006, Orlando. Proceedings... Reno, RV: **American Society of Agricultural and Biological Engineers**, 2006. p. 393-396.
- SILVA, L.F. e PRADA; 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. **Brazilian Journal Veterinae Reserch Animal Science**. v.37, n. 4, 2000.
- TAKAHASHI, F.H.; CASSOLI, L.D.; ZAMPAR, A.; MACHADO, P.F. Variação E Monitoramento Da Qualidade Do Leite Através Do Controle Estatístico De Processos. **Ciência Animal Brasileira**, v.13, n.1, p. 99-107, 2012.
- WALL E. H. & MCFADDEN T. B.. Use it or lose it: Enhancing milk production efficiency by frequent milking of dairy cows. **Journal of Animal Science**, 86:27-36, 2008.
- WEISS, D.et al. Variable milking intervals and Milk composition. **Milchwissenschaft**, v.57, n.5, p. 246-249, 2002.
- ZANELA, M.B; FISCHER, V.; RIBEIRO, M.E.R.; JUNIOR, W.S.; ZANELA, C.; MARQUES, L.T.; MARTINS, P.R.G. Qualidade do leite em sistemas de produção na região Sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**., v.41, n.1, p.153-159, jan. 2006.
- ÖSTERMAN, S. and BERTILSSON, J. E xtended calving interval in combination with milking two or three times per day: effects on milk production and milk composition. **Livestock Production Science** v.82 p.139–149, 2003.