

QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE DE BÚFALAS DAS RAÇAS MURRAH E JAFFARABADI EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE LACTAÇÃO.

PHYSICAL CHEMISTRY QUALITY OF BUFFALOES MILK OF MURRAH AND JAFFARABADI BREEDS AT DIFFERENT STAGES OF LACTATION.

Josué de Souza Oliveira¹, Cristiane Pereira de Lima¹, Ivan de Oliveira Pereira¹, Luciana Silva Teixeira Oliveira², Sérgio Augusto Albuquerque Fernandes³, Sibelli Passini Barbosa Ferrão³, Alexilda Oliveira de Souza³.

¹Professor – Instituto Federal de Ciência e Tecnologia Baiano – Campus Uruçuca

²Mestranda em Ciência Animal – UESB

³Professor Titular – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB

Palavras-chave: caracterização físico-química, estabilidade do leite, equilíbrio salino, influencia da raça, fases de lactação.



INTRODUÇÃO

As principais características físico-químicas utilizadas para avaliação da qualidade do leite de búfalas são pH, acidez titulável, ponto de congelamento (crioscopia), densidade e prova de alizarol. A acidez do leite fresco deve-se à presença de caseínas, fosfatos, albumina, dióxido de carbono e citratos. A elevação da acidez é determinada pela hidrólise da lactose por enzimas microbianas formando ácido láctico (PEREIRA *et al.*, 2001). Para a acidez do leite bubalino, os valores são mais elevados que os encontrados no leite de bovinos, devido à caseína, que por conter dezenas de aminoácidos com características anfotéricas, agem como ácido na titulação. A crioscopia ou depressão do ponto de congelamento é influenciada pela composição e está diretamente relacionado com o teor de sólidos totais e a concentração de ácido láctico, por isto, este parâmetro é utilizado para detecção de fraude por adição de água. A densidade é a relação entre a massa e o volume, sendo fortemente influenciada pela gordura, pois, ao aumentar-se a matéria gorda a densidade diminui, e vice-versa, podendo ser utilizada para detectar fraudes por adição de água sendo que, qualquer fator que aumente ou diminua o peso ou volume do leite afetará a densidade. A prova do alizarol é também uma caracterização físico-química, comumente utilizada na indústria para medir indiretamente a estabilidade do leite frente à elevação de temperatura no tratamento térmico e/ou variações do pH (BARROS, 2001). Este método se baseia na ocorrência de coagulação por efeito da elevada acidez ou do desequilíbrio salino, quando se promove a desestabilização das micelas de caseína pelo álcool e/ou mudança de cor promovida pela alizarina (BRASIL, 2006). Desta forma, o presente trabalho objetivou avaliar a qualidade físico-química do leite de búfalas das raças Jafarabadi e Murrah em diferentes estágios de lactação.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram separados 24 animais de acordo com as características externas, sendo 12 da raça Murrah e 12 da Raça Jafarabadi. As búfalas de mesma raça foram subdivididas em 03 grupos com 04 animais e de cada animal coletou-se um litro de leite. As amostras dos animais do mesmo grupo foram misturadas, formando assim a amostra composta. Desta forma, as amostras compostas foram coletadas durante a lactação das búfalas, sendo no início (aproximadamente um mês após a lactação), meio (no quinto mês da lactação) e no final (próximo ao nono mês da lactação). As amostras foram caracterizadas a partir dos seguintes parâmetros: pH, acidez, crioscopia, densidade e prova de alizarol. O potencial hidrogeniônico (pH) foi determinado por meio do potenciômetro Mettler Toledo modelo MP 220. Calibrou-se o pHmetro com as soluções 4,01 e 7,00 e em seguida, o eletrodo limpo e seco foi imerso na amostra a 25°C. Aguardou-se a estabilização do equipamento e realizou-se a leitura do resultado diretamente no aparelho (BRASIL, 2006). Para quantificação da acidez titulável em °D, transferiu-se uma alíquota de 10 mL da amostra para um béquer, acrescentou-se de 03 a 05 gotas da solução indicadora alcoólica de fenolftaleína a 1% e em seguida titulou-se com solução Dornic (Hidróxido de Sódio 0,11N com fator de correção 0,9985), até o aparecimento da coloração rósea persistente por aproximadamente 30 segundos. Após a titulação, o resultado foi determinado por meio da multiplicação do volume da solução Dornic em mL gasto para obtenção do ponto de viragem pelo fator de correção da solução e pelo fator 10 (BRASIL, 2006). A crioscopia foi determinada no crioscópio digital da marca ITR, devidamente calibrado com as soluções padrões -0,422 °H e -0,621 °H. Foram transferidos 2,5 mL da amostra utilizando-se uma pipeta graduada de 5,0 mL limpa e seca e em seguida, o aparelho foi acionado para realização da análise. O resultado foi lido diretamente no aparelho em graus Hortvet (°H) (BRASIL, 2006). A densidade foi determinada transferindo cerca de 500 mL da amostra, previamente aquecida a 40°C e resfriada a 15°C, para uma proveta, evitando incorporação de ar ou formação de espuma. Em seguida, o termolactodensímetro limpo e seco foi introduzido na amostra, deixando flutuar sem encostar-se à parede da proveta. O sistema permaneceu em repouso por 1 a 2 minutos e em seguida, foi realizada a leitura da densidade a 15°C no cuspide do menisco (BRASIL, 2006). Já as amostras destinadas ao teste de alizarol foram acondicionadas em frascos específicos. Foram utilizadas partes iguais (2 mL) do leite e solução alizarol com concentração de 72, 75, 78 e 80 % (v/v) em tubos de ensaio. Após a agitação da mistura foram observados a coloração e o aspecto geral. O leite estável deve apresentar coloração vermelho tijolo e aspecto sem grumos (BRASIL, 2006). Os resultados obtidos para pH, acidez Dornic, crioscopia e densidade foram tratados utilizando o delineamento experimental inteiramente casualizado num esquema fatorial 2 x 3, sendo duas raças (Murrah e Jafarabadi) e três fases de lactação (início, meio e fim) com três repetições por experimento. Para estudar o efeito da raça, da fase de lactação e da interação Raça e Fase de lactação, os resultados obtidos foram tratados no SAEG de acordo com métodos estatísticos utilizando análise de variância e testes de comparação entre médias (Tukey) a 5% de probabilidade, considerando o modelo estatístico $Y_{ijk} = m + a_i + b_j + (ab)_{ij} + e_{ijk}$, onde: Y_{ijk} = valores observados referentes ao i-ésima raça e j-ésima fase de lactação, na repetição k; m = efeito da média; a_i = efeito da raça; b_j = efeito da fase de lactação; $(ab)_{ij}$ = efeito da interação da raça com a fase de lactação; e_{ijk} = erro aleatório a observação Y_{ijk} .

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados de caracterização físico-química do leite de búfalas estão destacados na Tabela 1. De acordo com os resultados obtidos, verificou-se que não houve interferência estatística a 5% de probabilidade entre as raças e os estágios de lactação estudadas em relação aos valores de pH, acidez, crioscopia e densidade.

Não houve diferença ($p > 0,05$) nos valores da acidez e pH durante os três estágios de lactação (início, meio e final), entretanto, notou-se que os referidos parâmetros variaram entre as raças Murrah e Jafarabadi. A raça Jafarabadi apresentou maior valor de pH (6,93) e menor valor de acidez (13,8 °D) quando comparado com os resultados da raça Murrah que apresentou pH de 6,79 e acidez de 16,3 °D. Apesar de existir uma relação inversa entre pH e acidez, os valores dos referidos parâmetros no leite não são proporcionais. A dificuldade na obtenção de uma boa correlação está relacionada ao fato que, na determinação da acidez são quantificados os prótons hidrogênio livres (íons) e acessíveis (ionizáveis/dissociáveis); por outro lado, apenas os prótons hidrogênio livres (íons) são quantificados na determinação do pH (SILVA e TORRES, 1995).

As diferentes raças leiteiras com suas diferentes composições de leite têm sido apontadas como um dos fatores que altera a acidez titulável, que não está correlacionada com o teor de lactose no leite, mas correlacionada com o teor de gordura, sólidos totais e principalmente proteínas (AFONSO e VIANNI, 1995). Com relação ao ponto de congelamento (crioscopia) determinado em graus Hortvet, identificou-se diferença significativa ($p < 0,05$) nas médias dos resultados das amostras do leite da raça Murrah (-0,542°H) e Jafarabadi (-0,536°H). Entretanto, apesar de ter observado um pequeno abaixamento nos resultados médios obtidos durante as fases de lactação, não houve diferença ($p > 0,05$) entre os resultados das amostras de leite das búfalas estudadas no início (-0,535°H), meio (-0,539°H) e final da lactação (-0,542°H). A depressão do ponto de congelamento é influenciada pela composição e está diretamente relacionada com o teor de sólidos totais e à concentração de ácido láctico devido ao baixo ponto crioscópico do mesmo, por isto, este parâmetro é utilizado para detecção de fraude por adição de água. Portanto, a acidez titulável, medida em graus Dornic, quando elevada, poderá alterar os valores da crioscopia e consequentemente, mascarar a fraude por adição de água. Considerando que a raça Jafarabadi apresentou menor valor médio para a acidez Dornic (13,8°D) comparado com aquele obtido para a raça Murrah (16,3°D), é provável que este fator tenha influenciado na diferença observada nos resultados médios de crioscopia nas amostras de leite das duas raças. Apesar das diferenças encontradas nos valores de crioscopia, os resultados obtidos atendem os padrões da legislação para leite de búfalas, cujos valores variam entre -0,520°H a -0,570°H, equivalente a -0,502 a -0,550°C (SÃO PAULO, 1994). Quanto à densidade, a mesma está relacionada aos teores de gordura e extrato seco não gorduroso. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os resultados obtidos para raças e entre as fases de lactação.

Quanto aos resultados do teste de alizarol, verificou-se que, aqueles obtidos para a raça Murrah demonstraram uma baixa estabilidade protéica, quando comparados com os resultados da raça Jafarabadi (Tabela 2), pois apenas 22,22 % das amostras oriundas da raça Murrah apresentaram resultado negativo ao alizarol com a concentração igual a 80°GL, enquanto que 55,55% das amostras provenientes da raça Jafarabadi apresentaram resultados negativos ao alizarol com concentração igual a 80°GL. A hidrólise enzimática da κ -caseína, temperatura, pH, excesso de Ca^{2+} e adição de etanol estão entre os principais fatores que afetam a estabilidade coloidal das micelas de caseína (O'CONNELL *et al.*, 2006).

A elevada acidez (16,3 °D) e o baixo pH (6,79) encontrado no leite de búfalas da raça Murrah comparado com a acidez (13,8 °D) e o pH (6,93) obtido no leite da raça Jafarabadi, pode justificar a melhor resistência a 80°GL demonstrado no leite da raça Jafarabadi. O alto valor do pH é a explicação mais comum para tal resistência das proteínas quanto à precipitação, pois está relacionado com o distanciamento do ponto isoelétrico que no caso da caseína varia do pH 4,2 a 5,8 (BOBBIO & BOBBIO, 2001). A acidificação reduz a carga e a hidratação das proteínas. Quanto às fases de lactação, a ocorrência dos resultados negativo no alizarol 80°GL se deu de forma crescente durante o início (0,00%), meio (33,33%) e final da lactação (83,33%) (Tabela 3). Este comportamento pode ser explicado pelo possível alto teor de proteína e resíduo mineral fixo no início da lactação. O aumento da força iônica ou a forte ligação de íons específicos a grupos carregados da proteína pode diminuir a repulsão eletrostática e favorecer a auto-associação das proteínas. O excesso de Ca^{2+} é comparável ao *salting out*, ou seja, quando ocorre excesso de sais diminui a solubilidade das proteínas em água. O excesso de sais domina as cargas do solvente (água), diminuindo, consequentemente, o número de cargas disponíveis para se ligarem ao soluto (proteína). Desta forma, aumenta a interação soluto/soluto, ocorrendo à precipitação das proteínas (OLIVEIRA, 2005).

Tabela 1. Parâmetros físico-químicos do leite de búfalas

Parâmetros	Fases Lactação	Raças		Médias
		Murrah	Jafarabadi	
Potencial de Hidrogênio (pH)	Início	6,81 ± 0,07	6,97 ± 0,06	6,89 A ± 0,11
	Meio	6,76 ± 0,02	6,89 ± 0,02	6,82 A ± 0,07
	Final	6,81 ± 0,03	6,93 ± 0,14	6,87 A ± 0,11
	Médias	6,79 b ± 0,05	6,93 a ± 0,08	6,86 ± 0,10
Acidez Dornic (°D)	Início	15,3 ± 2,3	12,7 ± 1,2	14,0 A ± 2,2
	Meio	16,3 ± 0,6	14,0 ± 0,0	15,2 A ± 1,3
	Final	17,2 ± 0,6	15,7 ± 3,5	15,9 A ± 2,6
	Médias	16,3 a ± 1,5	13,8 b ± 2,0	15,0 ± 2,2
Crioscopia (°H)	Início	-0,539 ± 0,007	-0,532 ± 0,004	-0,535 A ± 0,006
	Meio	-0,542 ± 0,004	-0,536 ± 0,004	-0,539 A ± 0,005
	Final	-0,544 ± 0,007	-0,540 ± 0,007	-0,542 A ± 0,007
	Médias	-0,542 a ± 0,006	-0,536 b ± 0,006	-0,539 ± 0,006
Densidade (g/mL)	Início	1,0353 ± 0,0006	1,0348 ± 0,0003	1,0351 A ± 0,0005
	Meio	1,0347 ± 0,0010	1,0348 ± 0,0008	1,0357 A ± 0,0008
	Final	1,0352 ± 0,0010	1,0353 ± 0,0006	1,0352 A ± 0,0008
	Médias	1,0351 a ± 0,0008	1,0350 a ± 0,0006	1,0350 ± 0,0007

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na linha para raças e maiúscula na coluna para fase de lactação, não diferem entre si ($P > 0,05$) pelo teste F e Tukey, respectivamente. Não houve interação entre o fator raças e fases de lactação.

Tabela 2. Distribuição em percentual dos resultados da prova do alizarol em amostras de leite de búfalas das raças Murrah e Jafarabadi durante o início, meio e final da lactação

Concentração Alizarol (°GL)	Distribuição dos resultados negativos (%)				
	Raças		Fases de Lactação		
	Murrah	Jafarabadi	Início	Meio	Final
72	33,33	0,00	16,67	33,33	0,00
75	33,33	44,44	83,33	33,33	0,00
78	11,11	0,00	0,00	0,00	16,67
80	22,22	55,55	0,00	33,33	83,33
Total	100%	100%	100%	100%	100%

CONCLUSÕES

As avaliações realizadas dos parâmetros de pH, acidez Dornic, crioscopia, densidade e prova de alizarol nas amostras de leite de búfalas das raças Murrah e Jafarabadi obtidas em diferentes fases da lactação, criadas na Região Sudoeste da Bahia, demonstrou uma boa qualidade físico-química uma vez que os resultados das mesmas atenderam aos requisitos da legislação brasileira na qual estabelece padrões para o leite de vaca.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFONSO, J. B. A.; VIANNI, M. C. E. Variação do teor de cloretos e acidez Dornic no leite de vacas com mastite induzida experimentalmente. *Revista Universidade Rural*, v. 17, n. 1, p. 1-6, 1995.
- BARROS, L. Transtornos metabólicos que afetam a qualidade do leite. In GONZALÉS, F.H.D.; DURR, J.W.; FONTANELLI, R.S. *Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras*. Porto Alegre: UFRGS, p. 46-59, 2001.
- BOBBIO, P.A.; BOBBIO, F.O. *Química do processamento de alimentos*, 3ª ed., Varela, São Paulo, p. 142, 2001
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e abastecimento. Instrução Normativa n°68, 12 de agosto de 2006. **Métodos Analíticos Oficiais físico-químicos, para controle de Leite e Produtos Lácteos**. Brasília: Ministério da Agricultura, 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e abastecimento. Instrução Normativa n°62, de 29 de dezembro 2011. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite Cru Refrigerado**. Brasília: Ministério da Agricultura, 2011.
- OLIVEIRA, A. L. Búfalos: produção, qualidade de carcaça e de carne. Alguns aspectos quantitativos, qualitativos e nutricionais para promoção do melhoramento genético. *Revista Brasileira Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v.29, n.2, p.122-134, abril/jun. 2005.
- O'CONNELL, J.E.; SARACINO, P.; HUPPERTZ, T.; UNIAKE, T.; DE KRUIF, C.G.; KELLY, A.L.; FOX, P.F. Influence of ethanol on the rennet- induced coagulation of milk. *J Dairy Res*, 73: 312-317, 2006.
- PEREIRA, D.B.C.; SILVA, P.H.F.; COSTA JÚNIOR, L.C.G.; OLIVEIRA, L.L. **Físico-química do leite e derivados**. 2ª. Edição, EPAMIG, Juiz de Fora, 2001.
- SILVA, P. H. F.; TORRES, K. F. Acidez, pH e efeitos tampão no leite. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v. 50, n. 296, p. 33-41, nov./dez. 1995.
- SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Agricultura e Abastecimento. Dispõe sobre as normas técnicas de produção e classificação dos produtos de origem animal e as relativas às atividades de fiscalização e inspeção dos produtos de origem animal. **Resolução n° 24, capítulo 7, artigo 134 de 01 de agosto, 1994**. Disponível em <http://www.cda.sp.gov.br / legislação/>. Acessado em 24/05/2009.